



# Méthodes optiques pour le diagnostic et l'imagerie biomédicale

Anabela da Silva

## ► To cite this version:

Anabela da Silva. Méthodes optiques pour le diagnostic et l'imagerie biomédicale. Optique [physics.optics]. Aix-Marseille Université, 2013. tel-01053305

**HAL Id: tel-01053305**

**<https://theses.hal.science/tel-01053305>**

Submitted on 30 Jul 2014

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



## Dossier de Travaux

Présenté par

**Anabela DA SILVA**

Pour l'obtention d'une

## Habilitation à Diriger des Recherches

Discipline : **Physique et sciences de la matière**

# Méthodes optiques pour le diagnostic et l'imagerie biomédicale

*Soutenue publiquement le 25 novembre 2013*

Devant la Commission d'Examen :

M <sup>me</sup> Christine Andraud, PR, CRCC, MNHN, Paris	Rapporteur
M <sup>me</sup> Geneviève Bourg-Heckly, MCF-HC, Laboratoire J. Perrin, UPMC, Paris	Rapporteur
M <sup>me</sup> Carole Deumié, PR, Institut Fresnel, ECM, Marseille	Examineur
M. Jean-Marc Dinten, Dr, LISA, DTBS, CEA-LETI MINATEC, Grenoble	Examineur
M. Jacques Lafait, DR CNRS Emérite, INSP, UPMC, Paris	Examineur
M. Patrick Poulet, MCF-PH, iCUBE, Institut de Physique Biologique, Faculté de Médecine, Strasbourg	Examineur
M. Hervé Saint-Jalmes, PR-PH, LTSI, Université Rennes 1, Faculté de Médecine, Rennes	Rapporteur



*A Nils et Hervé*

*A tous les miens*





# SOMMAIRE

Introduction.....	7
Chapitre 1 : Méthodes d'imagerie Optiques Diffuses pour l'examen des tissus biologiques .....	13
Chapitre 2 : Imagerie optique moléculaire, du petit animal à l'humain: Développement de tomographes optiques pour l'examen in vivo.....	61
Chapitre 3 : Méthodes optiques pour l'imagerie des tissus biologiques à l'échelle mésoscopique.....	105
Chapitre 4 : Imagerie multiondes : Mammographie photoacoustique.....	151
Conclusion et perspectives.....	181
Annexe 1 Curriculum Vitae.....	187
Annexe 2 Production Scientifique.....	190
Annexe 3 Formation, Organisation de colloques.....	201



## INTRODUCTION

En médecine, l'examen non invasif du corps humain par voie optique n'est pas récent. En 1831, R. Bright (Bright, 1831) examine le crâne d'un patient hydrocéphale, par transmission, à la lueur d'une bougie ; de la même façon, en 1843, T.B. Curling (Curling, 1856) procède à un examen visuel de tumeurs des testicules. Plus tard, M. Cutler (Cutler, 1931, 1929) réalise les premières études cliniques longitudinales sur le sein, à l'aide d'une source de lumière de forte intensité, l'observation se fait à l'œil nu, par transillumination (Figure 1).

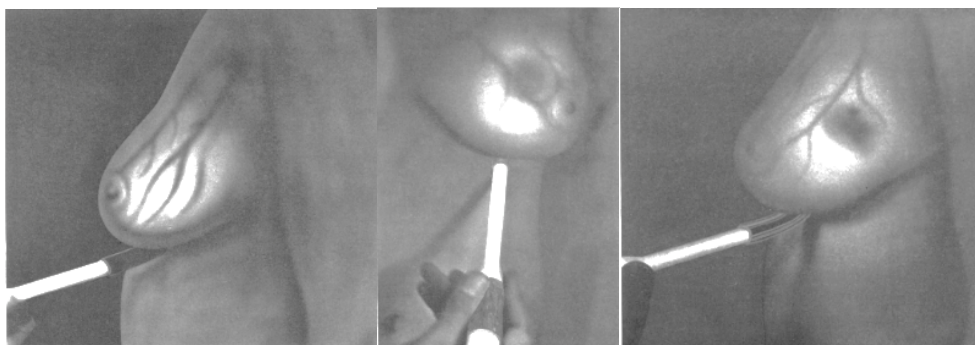


Figure 1 : Extrait de (Cutler, 1931). A gauche, observation d'un sein normal ; au centre, tumeur solide dans le sein ; à droite, hématome.

Exceptées quelques études anecdotiques, cette voie d'exploration du corps humain demeure largement délaissée jusqu'à la fin des années 1980. Outre la difficulté inhérente à l'imagerie en milieu diffusant, cette technique a principalement souffert du « boom » du développement des techniques d'imagerie aujourd'hui utilisées en routine dans nos hôpitaux. La radiologie s'est rapidement imposée dès le début du XX<sup>ème</sup> siècle, suivie dans les années 1950 par l'essor de l'échographie, et surtout depuis les années 1970, avec le scanner (CT pour « computerized tomography » en Anglais), l'IRM (Imagerie par Résonance Magnétique), et le développement de la médecine nucléaire (Tomographie par Emission MonoPhotonique, TEMP; Tomographie par Emission de Positrons, TEP). Cependant, depuis la fin des années 80 (Arridge et al., 1986), l'imagerie optique diffuse a connu un regain d'intérêt, et ceci pour de multiples raisons. En particulier, il s'agit d'une modalité d'imagerie non-ionisante, sans risque pour le patient, ni pour le praticien. Elle est de plus relativement peu coûteuse et facile à mettre en œuvre comparée aux autres techniques d'imagerie. Elle permet également de remonter à des informations complémentaires : outre la possibilité d'obtenir un contraste morphologique (cartographie d'absorption, de diffusion, de fluorescence), l'imagerie optique peut également fournir des informations d'ordre fonctionnel, grâce à la quantification des marqueurs, intrinsèques (oxy- ou déoxy-hémoglobine par exemple) ou fluorescents (fluorescence endogène ou exogène). Deux types d'instrumentations ont tout d'abord été développées en parallèle : l'une basée sur l'utilisation de marqueurs fluorescents et, jusque-là, dédiée exclusivement au petit animal, et l'autre basée essentiellement sur la mesure de contrastes d'absorption et de diffusion, marqueurs physiologiques intrinsèques du corps humain. Aujourd'hui, grâce au développement de marqueurs fluorescents injectables à l'humain, les problématiques de ces deux techniques se rejoignent.

En ce qui concerne le petit animal, le Tableau 1 permet de situer le potentiel de l'imagerie optique par rapport à d'autres modalités d'imagerie, plus conventionnelles.

Tableau 1

	Anatomie	Physiologie	Métabolisme	Moléculaire
Tomographie X	++	+	-	--
Ultrasons	++	+	-	--
IRM	++	++	++	-
TEMP/TEP	--	+	++	++
Optique	--	--	+	++

Ses principaux avantages sont les suivants : il s'agit d'une technique bas coût et sensible, surtout avec l'utilisation de sondes fluorescentes activables qui produisent un signal hautement spécifique (Weissleder and Ntziachristos, 2003); il existe aujourd'hui une large variété de bio-marqueurs; elle n'utilise pas de sources radioactives, ce qui permet des examens réguliers et des suivis longitudinaux sans aucune altération des fonctions biologiques; on peut directement transférer les protocoles développés *in vitro* à des validations *in vivo*. En revanche, seuls les photons du proche infrarouge traversent les tissus biologiques ; elle n'est utilisable que pour des examens de quelques centimètres en profondeur, ce n'est donc pas une technique d'imagerie corps entier; la sensibilité dépend elle-même de la profondeur; les résolutions géométriques en profondeur sont limitées à quelques millimètres.

Ce manuscrit décrit mes travaux de recherche dans le domaine de la modélisation de la propagation lumineuse dans les tissus biologiques, et plus généralement en milieux complexes, à savoir multiphasés, hétérogènes, plus ou moins denses et contenant des particules distribuées de manière désordonnée. Ces travaux s'appliquent ainsi à l'examen de nombreux milieux (multicouches, peintures, atmosphères, tissus biologiques...), avec une connotation intrinsèquement multi-échelle. J'ai commencé à travailler sur l'application au biomédical, après ma thèse (da Silva, 2001), conduite sous la direction de J. Lafait et C. Andraud, au Laboratoire d'Optique des Solides UMR 7601 (qui fait partie aujourd'hui de l'INSP), portant sur l'étude de la diffusion lumineuse par des milieux complexes. L'objectif de ce travail de thèse était double. Il s'agissait, d'une part, de faire progresser la modélisation des propriétés optiques de milieux hétérogènes contenant des particules diffusantes en interaction forte, dans le but de l'appliquer au traitement de milieux réels, fortement concentrés en inclusions et se présentant souvent sous la forme de multicouches. Il s'agissait, d'autre part, de mettre au point un dispositif de mesure susceptible de valider le modèle développé et de servir à la caractérisation optique fine des propriétés diffusantes de ces milieux. Pour ce qui concerne la modélisation, nous avons choisi une approche très générale, basée sur la résolution de l'Equation de Transfert Radiatif (ETR). Celle-ci présente l'avantage, en utilisant la méthode des Ordonnées Discrètes (OD), de permettre un calcul des intensités diffusées dans les différentes directions de l'espace et de se prêter à une représentation matricielle que nous avons introduite afin de traiter le cas des structures multicouches.

Pour pouvoir continuer à allier théorie et expérience, parmi les nombreuses applications possibles, j'ai choisi de m'orienter vers l'imagerie biomédicale. J'ai tout d'abord rejoint l'équipe

du Professeur M. Nieto-Vesperinas, à l'Instituto de Ciencias de Materiales de Madrid (Espagne), où j'ai développé un modèle théorique de diffusion de la lumière dans des systèmes à géométrie complexe (3D), applicable notamment à la géométrie du cerveau humain. Ce travail m'a notamment permis de cerner les problèmes fondamentaux et inhérents à l'imagerie dans des tissus biologiques. Il s'est malheureusement interrompu en mai 2002, faute de moyens financiers (fin du contrat européen). J'ai pu poursuivre (à partir de septembre 2002) mon travail dans l'équipe de V. Ntziachristos au Massachusetts General Hospital et Harvard Medical School (Boston, U.S.A.), où j'ai appliqué de manière effective mon développement théorique à la reconstruction d'image, avec une étude expérimentale en milieu hospitalier.

J'ai été contactée à l'été 2003 par Ph. Rizo du CEA-LETI, dans le but de participer à la mise en place d'un groupe de travail dédié au développement d'instruments d'imagerie pour le petit animal basés sur la détection de la fluorescence, domaine de recherche qui était alors encore peu développé en Europe. En septembre 2003, j'ai donc rejoint l'équipe IMO3D (Imagerie Moléculaire Optique 3D) sous la direction de Ph. Peltié et J.-M. Dinten au Laboratoire d'Instrumentation et de Systèmes d'Acquisition (LISA/CEA-LETI/Grenoble), au Département des micro-Technologies pour la Biologie et la Santé (DTBS) pour mettre en place ce projet. Il s'agissait alors d'un programme de Recherche Technologique de Base (RTB, financement interne CEA), mis en place dans le but de développer une expertise dans ce domaine et de combiner les différentes compétences du LETI en matière d'instrumentation optique et de techniques de reconstruction d'images (tomographie X).

Nos résultats en tomographie optique diffuse de fluorescence sont à présent reconnus par la communauté internationale. Il s'agit maintenant d'une activité bien implantée au sein du DTBS, comme en témoigne les rapports d'activité du LETI (consultables sur <http://www-leti.cea.fr/fr/Decouvrez-le-Leti/Documentation3>): en 2003, pour démarrer cette activité, nous étions 4 (1 permanent, 1 doctorante et 2 post-doc); aujourd'hui, le groupe compte environ 17 personnes (dont 13 permanents). Il s'agit d'une activité bien rôdée. Après les travaux sur l'imagerie du petit animal, les applications se sont orientées vers l'imagerie du corps humain (prostate, sein). Le groupe entre maintenant dans une phase de valorisation et de transfert industriel.

Fin 2008, j'ai choisi de poursuivre mes activités de recherche au sein de l'équipe MAP2 à l'Institut Fresnel UMR 6133, avec un projet de recherche portant toujours sur la thématique de l'optique pour le biomédical. Mon recrutement correspond à une période où l'équipe souhaitait s'orienter vers des applications biomédicales, avec plusieurs développements en imagerie polarimétrique et le montage d'un OCT. L'objectif pour moi était d'utiliser la polarisation de la lumière pour explorer les tissus à l'échelle mésoscopique. Cette propriété unique apporte en effet une nouvelle dimension et me permet d'envisager de nouvelles techniques de sondage des tissus biologiques, à une échelle intermédiaire que je situerais entre le domaine microscopique, techniques développées par ailleurs dans d'autres équipes de l'Institut, et les approches macroscopiques que j'ai étudiées précédemment.

Dans ce document, je présente les grandes lignes des travaux de recherche que j'ai menés dans divers laboratoires depuis ma thèse. Le premier chapitre est une revue présentant

l'état de l'art des techniques optiques appliquées au biomédical. Dans les trois autres chapitres, je résume, globalement dans l'ordre chronologique, les résultats obtenus dans les divers thèmes développés, à savoir :

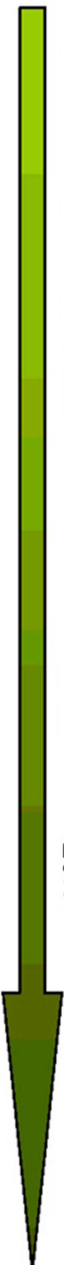
- 1) Caractérisation optique des tissus biologiques et tomographie optique diffuse de fluorescence : travaux développés au sein du CEA-LETI, dans le cadre de 2 stages M2, 1 DRT, 3 thèses (2 en co-encadrement) et 2 post-doc (1 encadré) ;
- 2) Méthodes optiques pour l'imagerie des tissus biologiques à l'échelle mésoscopique : travaux réalisés dans le cadre d'une thèse, accompagnée d'un contrat de collaboration avec le CEA-LETI, et d'un stage M2 financé par l'INT;
- 3) L'imagerie multiondes avec la mammographie photoacoustique : travaux en cours de développement dans le cadre d'une thèse (financement CSC) et d'un projet ANR.

La page qui suit présente un schéma chronologique de mon parcours en recherche. Il montre notamment que mon travail a toujours été motivé par la confrontation entre modélisation théorique de phénomènes physiques et l'expérimentation sur des objets réels.

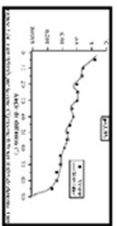
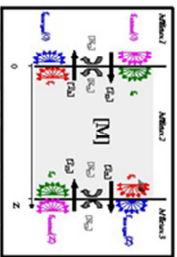
2000

2005

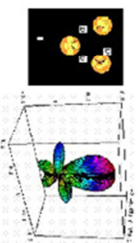
2010



## Modèle de Transfert Radiatif



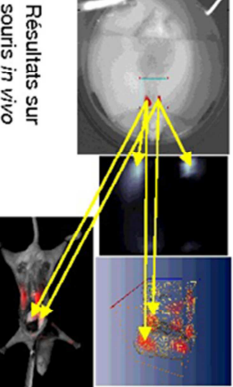
Flux diffusé par un ensemble de systèmes diffusants



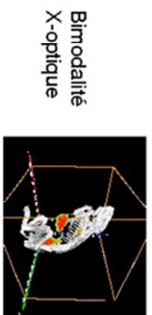
## Tomographie Optique Diffusive de fluorescence



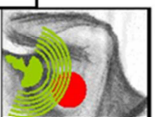
Petit animal



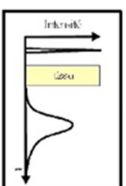
Résultats sur souris *in vivo*



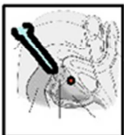
mammographie



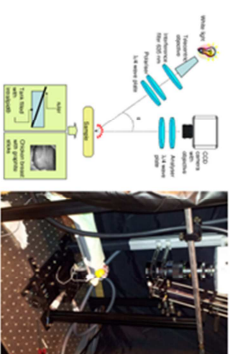
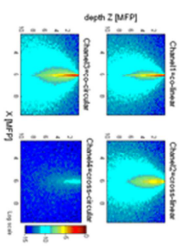
Humain  
Exploitation de l'information temporelle



endoscopie

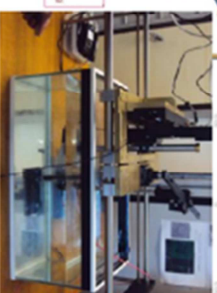
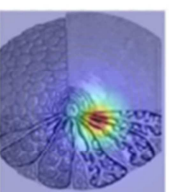
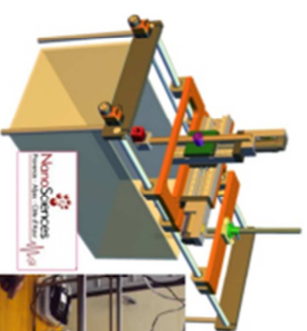


## Sondage polarimétrique



## Imagerie photoacoustique

Mammo TPA







# CHAPITRE 1 : METHODES D'IMAGERIE OPTIQUES DIFFUSES POUR L'EXAMEN DES TISSUS BIOLOGIQUES

## CONTENU

Chapitre 1 : Méthodes d'imagerie Optiques Diffuses pour l'examen des tissus biologiques .....	13
I. Propagation de la lumière dans les tissus biologiques .....	14
Propriétés optiques des tissus .....	14
Propagation de la lumière en milieu diffusant : l'Equation de Transfert Radiatif .....	20
Résolution de l'ETR .....	21
II. Systèmes d'imagerie optique diffuses.....	29
DOS/NIRS .....	29
DOT .....	31
FDOT/FMT .....	32
DCS.....	33
CW, FD, TD : différentes informations selon le types de sources et de détecteurs .....	34
III. Problèmes inverses en imagerie optique diffuse .....	36
Formulation générale .....	36
Différents modes de reconstruction.....	37
IV. Techniques alternatives .....	51
Imagerie multi modale .....	52
Techniques combinant optique et acoustique .....	52
Imagerie polarimétrique.....	53
Techniques électromagnétiques dans une autre gamme de longueurs d'onde .....	54
V. Références.....	55

Ce chapitre présente un état de l'art qui couvre les trois actions permettant de faire de l'imagerie, à savoir *éclairer*, *mesurer* et *reconstruire*. Je présente en premier lieu les modèles physiques développés pour traiter le problème de l'imagerie optique des tissus biologiques, à l'échelle macroscopique. La difficulté principale de l'examen optique est la forte diffusion des tissus. Comme illustré sur la Figure 2, la lumière visible (ici, rouge, 633 nm) pénètre bien les tissus biologiques (ici la main), mais elle subit une forte diffusion de sorte que le point lumineux initial (impact du laser  $\sim 1$  mm) devient une tâche d'environ 1 cm de diamètre après traversée d'1 cm de tissu seulement. Cette diffusion est principalement due à des particules dont la taille caractéristique est globalement de l'ordre de la longueur d'onde (diffusion de Mie) ou légèrement plus faible (diffusion de Rayleigh). Les tissus biologiques sont par conséquent généralement modélisés comme un milieu très diffusant, composés de diffuseurs de tailles et d'indices de réfraction variables, et peu absorbant aux longueurs d'onde de la fenêtre thérapeutique (600-1000 nm). Différents modes d'examen existent, liés aux différentes technologies d'illumination et de détection optiques. Leur développement est guidé par l'application et par l'information spécifique à laquelle on souhaite remonter. Une revue des différents types de systèmes d'imagerie optique ainsi que des différentes méthodes disponibles pour remonter à un diagnostic ou à une image est présentée ici.

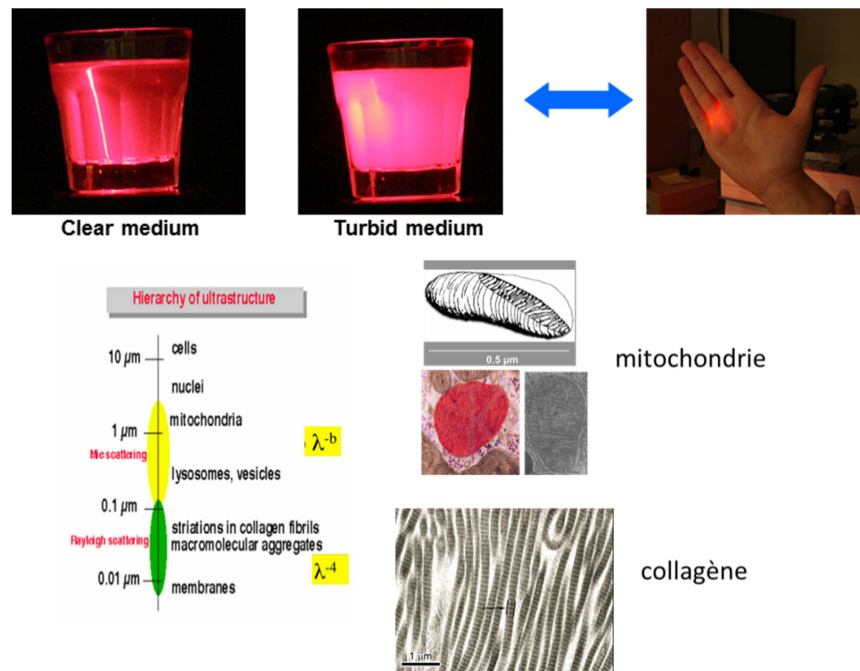


Figure 2 : Haut : Analogie entre la propagation lumineuse (faisceau laser He-Ne) en milieu turbide et dans les tissus biologiques. Bas : principales particules responsables de la diffusion des tissus.

## I. PROPAGATION DE LA LUMIERE DANS LES TISSUS BIOLOGIQUES

Les grandes lignes de cette partie se retrouvent dans la publication (Da Silva, 2010).

### PROPRIETES OPTIQUES DES TISSUS

La description physique des phénomènes d'interaction de lumière avec la matière permet d'établir une description de la propagation lumineuse, à différentes échelles. De manière générale, à l'échelle optique, la propagation lumineuse est déterminée par les indices de réfraction des différents constituants du milieu, traduisant les pertes et changements de direction de l'onde initiale. On distingue principalement deux types d'interactions : l'absorption, souvent liée au phénomène de fluorescence, et la diffusion optique, élastique ou inélastique (Depeursinge, 2002; Tuchin, 2006, 2000; Vo-Dinh, 2003). Cependant, les propriétés microscopiques des constituants ne traduisent pas directement le comportement macroscopique de la lumière dans le tissu, il faut prendre en compte la fraction volumique de chacun des constituants élémentaires qui varie naturellement selon le type de tissu mais également selon son métabolisme (oxygénation, hydratation, vascularisation...). Malgré la difficulté évidente d'effectuer des mesures absolues de ces propriétés optiques, on comprend bien qu'elles véhiculent une information sur le métabolisme permettant ainsi d'accéder à un diagnostic.

### L'INDICE DE REFRACTION

L'indice de réfraction  $n$  d'un milieu caractérise la vitesse de phase  $c/n$  de l'onde électromagnétique dans ce milieu ( $c$  représente la vitesse de la lumière dans le vide). Un changement de l'indice de réfraction, à l'interface entre deux milieux de natures différentes, induit un changement de direction de l'onde incidente dû à des phénomènes de diffusion, de

réfraction ou de réflexion. Pour qualifier les tissus biologiques, généralement très hétérogènes à quelques exceptions près (cornée par exemple), on parlera d'indice de réfraction effectif, résultant de l'approximation obtenue en effectuant une moyenne pondérée par le volume des constituants élémentaires. Il peut être considéré réel (partie imaginaire relativement faible (Lai et al., 2010)) et sa valeur dépend essentiellement de la teneur en eau du tissu:

Tableau 2 : Propriétés optiques de l'eau et de quelques tissus biologiques. Références : a) (Segelstein, 1981) et a) (Tuchin, 2006)

Tissu	Longueur d'onde [nm]	Indice de réfraction [-]
<i>Eau</i>	400-800	1.33 <sup>a</sup>
<i>Aorte normale</i>	456-1064	1.36-1.39 <sup>b</sup>
<i>Vessie</i>	456-1064	1.37-1.40 <sup>b</sup>
<i>Cerveau</i>	456-1064	1.36-1.38 <sup>b</sup>
<i>Tissu mammaire normal</i>	800	1.403 <sup>b</sup>
<i>Tissu mammaire pathologique</i>	800	1.431 <sup>b</sup>
<i>Esophage</i>	456-1064	1.37 <sup>b</sup>
<i>Graisse sous-cutanée</i>	456-1064	1.44 <sup>b</sup>
<i>Graisse abdominale</i>	456-1064	1.46 <sup>b</sup>
<i>Dent</i>	400-700	1.62 <sup>b</sup>

Compte-tenu de la constitution des tissus, remonter à des valeurs absolues reste encore illusoire, excepté peut-être pour les tissus superficiels (peau). Les méthodes conventionnelles (mesures de réflexion-transmission) sont applicables pour des mesures ex-vivo, or l'indice de réfraction dépend naturellement de l'hydratation du tissu. Les techniques actuelles sont basées sur le filtrage de la diffusion : méthodes d'adaptation d'indice (« optical clearing » en Anglais (Tuchin, 2006)), microscopie confocale, OCT, polarimétrie. Du point de vue de la modélisation, on s'accorde à estimer que l'indice de réfraction des tissus biologiques mous est de l'ordre de 1.4, entre l'indice de l'eau et celui des lipides.

## L'ABSORPTION

A l'échelle moléculaire, l'absorption d'un photon incident sur une molécule se produit lorsque l'énergie de ce photon correspond à une énergie de transition électronique, vibrationnelle ou rotationnelle de la molécule. Cette énergie absorbée par la molécule est essentiellement transformée en chaleur dans les tissus biologiques, ce qui permet d'ailleurs l'utilisation thérapeutique des lasers en médecine. A l'échelle macroscopique, dans un milieu non diffusant, homogène, le coefficient d'absorption  $\mu_a$ , exprimé en  $\text{cm}^{-1}$  pour les milieux biologiques classiquement sondés, traduit la perte d'intensité d'un faisceau collimaté à travers un milieu d'épaisseur  $\ell$ . Ceci s'exprime par la loi de Beer-Lambert :

$$I = I_o \exp(-\mu_a \ell) \quad \text{Équation 1}$$

où  $I_o$  est l'intensité incidente et  $I$  l'intensité transmise. Le coefficient d'absorption varie selon la longueur d'onde (Figure 3).

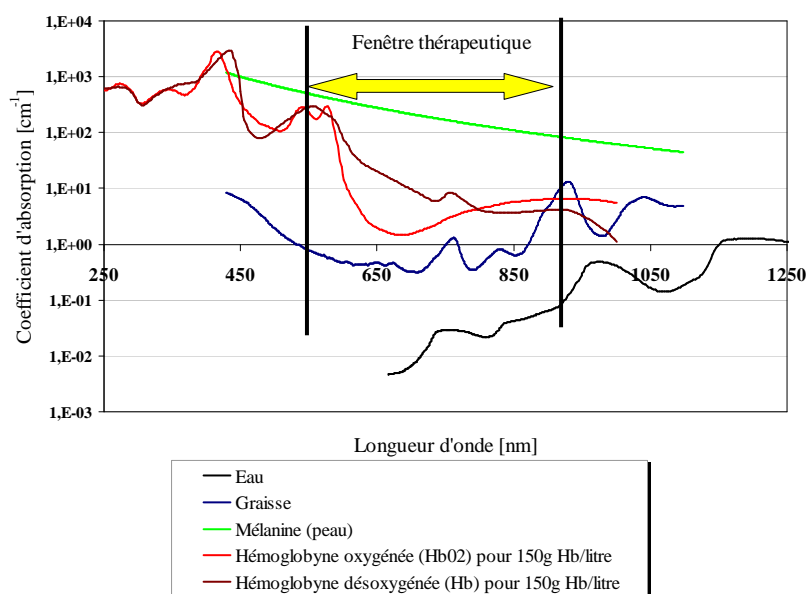


Figure 3: Spectres d'absorption des principaux chromophores constituant les tissus biologiques, obtenus d'après les données de la référence de (<http://omlc.ogi.edu>, n.d.).

Dans le spectre d'absorption d'un tissu biologique, on retrouve les signatures spectrales des principaux absorbeurs constituant le milieu, appelés *chromophores*, à savoir l'eau et le sang. L'eau absorbe dans l'ultraviolet et surtout dans l'infrarouge. Le spectre de l'hémoglobine dépend de son état d'oxygénation. Hémoglobines oxygénée (HbO) et réduite (Hb) ont un fort coefficient d'absorption aux faibles longueurs d'onde du visible, et des spectres relativement similaires. En revanche, au-dessus de 600 nm, les deux spectres sont très différents, ce qui permet de remonter à une information fonctionnelle sur le métabolisme : c'est la base de la mesure du taux d'oxygénation sanguine à l'aide des oxymètres de pouls, qui permettent de remonter à la mesure du taux de saturation en oxygène de l'hémoglobine. L'ADN et les protéines, comme la mélanine, absorbent préférentiellement dans l'ultraviolet et le visible. C'est dans la région rouge et proche infrarouge (typiquement de 700 à 1000 nm) que l'absorption globale des tissus biologiques est minimale. Cette zone est appelée « fenêtr thérapeutique », initialement par J. Parrish et R. Anderson (Anderson and Parrish, 1981) dans leurs travaux sur l'utilisation du laser en dermatologie. C'est à ces longueurs d'onde qu'il convient de travailler pour pouvoir sonder plusieurs centimètres de tissu. Pour s'en convaincre, il suffit de regarder sa main placée devant une ampoule électrique allumée : seul le rouge est susceptible d'être transmis, les autres couleurs sont absorbées. Dans cette région spectrale, l'absorption par l'hémoglobine du sang reste importante, mais la fraction volumique de sang dans les tissus est suffisamment faible (quelques pourcents) pour que l'absorption moyenne demeure faible, généralement entre 0,01 et 1  $\text{cm}^{-1}$  selon les tissus (Cheong et al., 1990). Ces chromophores jouent un rôle important dans l'appréciation de l'activité métabolique des tissus vivants. Certains métabolites comme le glucose peuvent être dosés dans les tissus grâce à leurs caractéristiques spectrales.

#### LE CAS PARTICULIER DE LA FLUORESCENCE

Les électrons excités par effet photo-électrique regagnent l'état fondamental en empruntant des voies de désexcitation radiatives ou non, selon la nature électronique et

photonique du matériau. Dans le cas des transitions radiatives (Figure 4), des photons de fluorescence sont émis à une longueur d'onde supérieure à celle du photon absorbé.

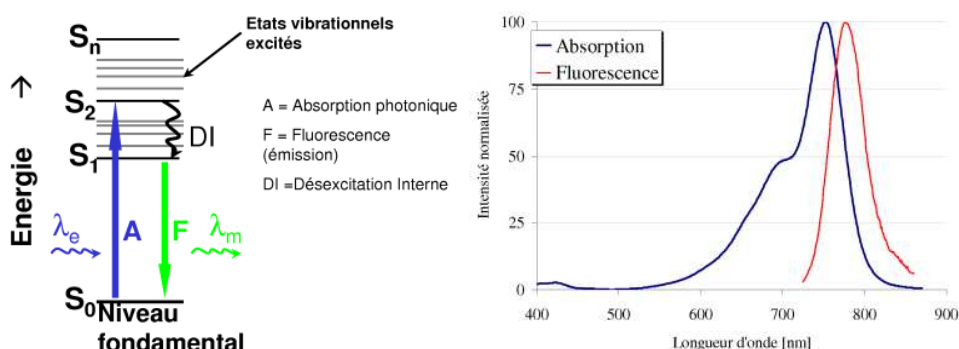


Figure 4: Diagramme de Jablonski et spectres d'absorption et de fluorescence de la molécule Alexa Fluor 750 (Molecular Probe©)

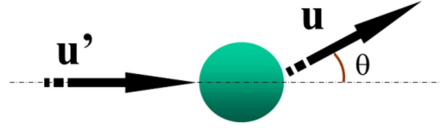
On peut donc sélectionner les photons fluorescents au moyen de filtres spectraux tels que des filtres interférentiels. La plupart des chromophores actifs dans le bleu et l'UV sont aussi des fluorophores (porphyrines, NADH, flavines, élastine, actine...). Le spectre de fluorescence dépend de leurs caractéristiques physicochimiques propres et de leur environnement immédiat. Ces fluorophores existent à l'état naturel dans les tissus vivants : on parle d'autofluorescence, de fluorescence endogène ou de fluorescence intrinsèque. L'analyse spectrale de ce signal de fluorescence permet une caractérisation des tissus et notamment une différenciation des tissus pathologiques tels que des tissus tumoraux (Péry et al., 2008). Le contraste de l'image de fluorescence peut être amélioré par l'introduction de fluorophores externes qui peuvent être des marqueurs tissulaires tels que des anticorps, des sucres, des molécules organiques, marqués par des étiquettes fluorescentes organiques telles que les cyanines, ou inorganiques telles que des nanoparticules (quantum dots). Deux produits en particulier bénéficient de l'AMM (Autorisation de Mise sur le Marché) : la fluorescéine et le vert d'indocyanine. Pour certaines applications, on peut utiliser des agents photodynamiques, en général fluorescents, qui traduisent des altérations métaboliques associées à la présence de tumeurs (Alfano et al., 1989; Lakowicz, 1983; Wagnieres et al., 1998). Deux fluorophores exogènes sont aujourd'hui autorisés pour une utilisation clinique. Il s'agit de l'Hématoporphyrine (ou Photofrin II)(Wagnieres et al., 1998) et surtout de l'ALA (Acide Amino Lévinique) qui est un précurseur de la protoporphyrine IX (Webber et al., 1997).

## LA DIFFUSION

Le phénomène de diffusion lumineuse se produit lorsqu'une onde électromagnétique rencontre une particule d'indice de réfraction différent de celui du milieu environnant. Sous l'effet de l'onde incidente, les charges de la particule se mettent à osciller, se transformant ainsi en dipôles oscillants qui rayonnent des ondes secondaires, et ceci à la même fréquence que l'onde incidente, dans le cas où il n'y a pas de perte d'énergie et la diffusion est dite *élastique*, ou à une fréquence différente, correspondant à la perte d'énergie, la diffusion est dite *inélastique*, c'est le cas de la diffusion Raman (transmission d'énergie à un mode optique) ou Brillouin (transmission d'énergie à un mode acoustique). La particule se comporte alors comme une source de lumière secondaire avec une distribution angulaire d'intensité qui lui est propre,

et qui dépend en particulier de la taille de la particule par rapport à la longueur d'onde d'illumination, ainsi que de son indice de réfraction.

Une caractéristique importante de la diffusion élastique est donnée par la *fonction de phase*  $ph(\mathbf{u}', \mathbf{u})$ , qui donne la probabilité de diffusion d'un photon incident suivant la direction  $\mathbf{u}'$  dans la direction d'observation  $\mathbf{u}$ .



Conventionnellement elle est normée à 1 (parfois à  $1/4\pi$ ) par intégration sur tout l'espace :

$$\int_{4\pi} d\omega' ph(\mathbf{u}', \mathbf{u}) = 1 \quad \text{Équation 2}$$

où  $d\omega'$  est l'angle solide élémentaire d'observation. Lorsque les diffuseurs sont assimilés à des sphères, on peut montrer que la fonction de phase ne dépend que de l'angle de diffusion :  $ph(\mathbf{u}', \mathbf{u}) = ph(\mathbf{u}' \cdot \mathbf{u}) = ph(\cos(\theta))$ . Elle dépend du contraste d'indice entre la particule et son milieu hôte, et surtout de la taille de la particule par rapport à la longueur d'onde. En règle générale, la fonction de phase n'est pas constante en fonction de l'angle et traduit une loi de diffusion dite « anisotrope ». Le degré d'anisotropie du milieu est donné par la moyenne de  $\cos(\theta) = \mathbf{u}' \cdot \mathbf{u}$  et est appelé *facteur d'anisotropie*  $g$ :

$$g = \langle \cos(\theta) \rangle = \int_{4\pi} d\omega' ph(\mathbf{u}' \cdot \mathbf{u}) \mathbf{u}' \cdot \mathbf{u} \quad \text{Équation 3}$$

$g = 0$  pour une diffusion parfaitement isotrope,  $g = 1$  pour une diffusion totale vers l'avant (milieu non diffusant). Dans les tissus biologiques, la diffusion se fait préférentiellement vers l'avant, avec un coefficient d'anisotropie de l'ordre de 0,69 à 0,99 (Cheong et al., 1990).

On définit le *paramètre de taille*, quantité sans dimension, produit du nombre d'onde  $k$  et de la taille caractéristique de la particule  $a$ , qui permet de prendre en compte de manière effective ces trois paramètres :  $ka = 2\pi na/\lambda$ , où  $n$  est l'indice de réfraction du milieu environnant. Ce paramètre permet de distinguer trois régimes de diffusion:

$ka \ll 1$  (typiquement  $<0,1$ ), on parle de diffusion Rayleigh, la première théorie de diffusion de la lumière s'appliquant à des petites particules (Rayleigh, 1871). Dans ce cas, la diffusion de la lumière est isotrope. La diffusion Rayleigh varie comme  $\lambda^{-4}$ . Elle est bien plus forte dans le bleu, à 400 nm, que dans le rouge à 650 nm, produisant la couleur bleue du ciel, et le soleil rouge au couchant.

$ka \geq 1$ , il faut faire appel à la théorie de Mie (Mie, 1908). Les indicatrices d'intensité deviennent plus complexes, et la rediffusion a lieu préférentiellement vers l'avant (particules non métalliques) à mesure que la taille de la particule augmente. Les lobes de diffusion que l'on voit apparaître dans l'indicatrice d'intensité proviennent des interférences entre les ondes secondaires rayonnées (Figure 5). La diffusion de Mie ne dépend pas fortement de la longueur

d'onde, ainsi les particules constituant le brouillard par exemple, éclairées par le soleil, apparaissent blanches.

$ka \gg 1$ , les indicatrices de diffusion deviennent de plus en plus anisotropes, les lois de l'optique géométrique suffisent à traiter le problème, c'est le cas des gouttes de pluie éclairées dans le visible.

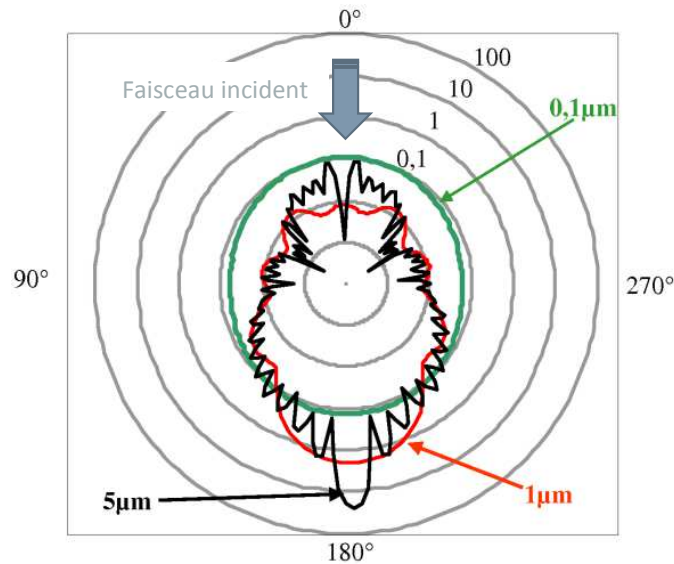


Figure 5: Indicatrices de diffusion pour des sphères de diamètres 0.1 μm (en vert), 1 μm (en rouge) et 5 μm (en noir). L'indice de réfraction du milieu environnant est 1, celui des sphères est 1.4, le faisceau à une incidence de 0°, et la longueur d'onde est de 0.633 μm.

Les particules de taille comparable à la longueur d'onde avec un indice de réfraction suffisamment différent du cytoplasme forment des centres qui contribuent collectivement à la diffusion élastique des photons dans les tissus (Liu et al., 1993). Dans les tissus biologiques, la lumière rencontre des structures de tailles variées. Les ordres de grandeurs sont variables mais, à titre indicatif, très schématiquement, cela peut aller de 0,01 μm pour les membranes, 0,1 μm pour les agrégats macromoléculaires, 1 μm pour les mitochondries, 2-3 μm pour les fibres de collagène, 10 μm pour les cellules... On comprend que dans ces conditions, il n'est pas possible d'appliquer une théorie électromagnétique exacte comme celle de Rayleigh ou de Mie. C'est pourquoi, pour caractériser la diffusion par des tissus biologiques, on se place à une échelle macroscopique, et on fait classiquement appel à la fonction de phase de (Henyey and Greenstein, 1941):

$$ph_{HG}(s, \mathbf{u}' \cdot \mathbf{u}) = \frac{1}{4\pi} \frac{1-g^2}{[1+g^2-2g\mathbf{u}' \cdot \mathbf{u}]^{3/2}} \quad \text{Équation 4}$$

Cette expression, initialement développée pour simuler la dépendance angulaire de la diffusion de la lumière par des particules de petite taille dans les nuages de poussière interstellaire, est largement retenue pour décrire la dépendance angulaire de la diffusion dans les tissus biologiques (Jacques et al., 1987). Si elle rend bien compte de l'anisotropie de diffusion d'un milieu ( $g$  facteur d'anisotropie Équation 3), en revanche, elle ne permet pas de traduire les effets subtils d'interférences que l'on voit dans les lobes de diffusion. Dans des milieux optiquement épais, ces figures disparaissent, et on admet sans difficulté que l'Équation 4 traduira avec une bonne approximation le profil de diffusion d'un tissu biologique.



On définit un *coefficient de diffusion* moyen  $\mu_s$  exprimé en  $\text{cm}^{-1}$ , défini de la même façon que pour l'absorption. Considérons un milieu diffusant et non absorbant. La quantité de lumière collimatée  $I$  qui traverse un échantillon diffusant mais non absorbant d'épaisseur  $\ell$  sans être diffusée (c'est-à-dire l'intensité *balistique*) s'exprime sous la forme:

$$I = I_o \exp(-\mu_s \ell) \quad \text{Équation 5}$$

où  $I_o$  est l'intensité incidente. La grandeur intuitive permettant de quantifier la fréquence du phénomène de diffusion est le *libre parcours moyen de diffusion*  $\ell(\text{scat}) = 1/\mu_s$  qui représente la distance parcourue en moyenne par un photon entre deux événements de diffusion consécutifs. Dans les tissus biologiques, il est de l'ordre de 20 à 100  $\mu\text{m}$  (Gelebart, 1998).

Pour traduire de manière effective les propriétés de diffusion des tissus biologiques, on introduit souvent le *coefficient de diffusion réduit*  $\mu'_s$  ainsi que le libre parcours moyen de transport  $\ell^*$ :

$$\mu'_s = (1 - g)\mu_s = \frac{1}{\ell^*} = (1 - g) \frac{1}{\ell(\text{scat})} \quad \text{Équation 6}$$

On interprète  $\ell^*$  comme la distance au bout de laquelle un photon a perdu la mémoire de sa direction initiale, autrement dit, la distance moyenne parcourue par un photon dans un milieu anisotrope avant d'être diffusé de façon totalement isotrope. Elle est typiquement de 500  $\mu\text{m}$  dans les tissus biologiques.

## PROPAGATION DE LA LUMIERE EN MILIEU DIFFUSANT : L'EQUATION DE TRANSFERT RADIATIF

Une source incohérente, comme par exemple une lampe à incandescence, produit une phase aléatoire à la fois en temps et en espace, et ne génère pas de figure d'interférences notables. La grandeur mesurable par photométrie est le flux d'énergie radiative monochromatique  $dP_v(\mathbf{r}, \mathbf{u}, t)$  (ou puissance rayonnée) traversant un élément de surface  $dA$  centré au point  $\mathbf{r} = (x, y, z)$ , dans un angle solide élémentaire  $d\Omega$  centré sur la direction  $\mathbf{u}$ , dans l'intervalle de fréquences  $[v, v + dv]$  et au temps  $t$ :

$$dP_v(\mathbf{r}, \mathbf{u}, t) = L_v(\mathbf{r}, \mathbf{u}, t) \mathbf{u} \cdot \mathbf{n} dA d\Omega dv \quad \text{Équation 7}$$

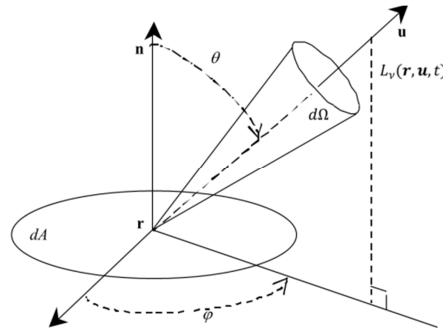


Figure 6 : Schéma représentatif des quantités photométriques

La quantité photométrique d'intérêt, indépendante de l'instrument de mesure, est ici la luminance  $L(\mathbf{r}, \mathbf{u}, t)$  [ $\text{W}/\text{m}^2\text{srHz}$ ] (*radiance, specific intensity* en Anglais) définie comme la puissance d'une source de lumière détectée dans une direction  $\mathbf{u}$  donnée, divisée par l'aire

apparente  $dA \cos \theta$  examinée sous cette même direction. Dans ce qui suit, on se place à une fréquence donnée.

Le modèle de propagation de la luminance dans un milieu diffusant est l'Equation de Transfert Radiatif (ETR). Elle a tout d'abord été largement utilisée en astrophysique (Chandrasekhar, 1960) et en diffusion de neutrons (Case and Zweifel, 1967), avant d'être appliquée à la diffusion optique (Ishimaru, 1978).

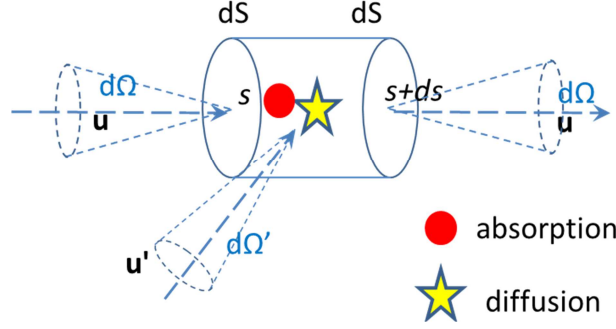


Figure 7 : Volume élémentaire.

On l'établit de manière phénoménologique en effectuant, localement, dans un volume élémentaire mesuré entre les abscisses curvilignes  $s$  et  $s + ds = s + c dt$ , dans une direction d'observation  $\mathbf{u}$ , un bilan d'énergie de la luminance à un instant  $t$  donné:

$$L_v(s + c dt, \mathbf{u}, t + dt) - L_v(s, \mathbf{u}, t)$$

$$= \frac{dL_v(s, \mathbf{u}, t)}{dt}$$

$$= \frac{\partial L_v(s, \mathbf{u}, t)}{\partial t} + c \mathbf{u} \cdot \nabla L_v(s, \mathbf{u}, t)$$

$$= -(\mu_a + \mu_s) L_v(s, \mathbf{u}, t) c dt$$

→ **pertes** par absorption et par diffusion vers les autres directions de l'espace

$$+ \frac{\mu_s}{4\pi} \int_{4\pi} p h_v(s, \mathbf{u}', \mathbf{u}) L_v(s, \mathbf{u}', t) d\Omega' ds$$

→ **gain** par diffusion depuis les autres directions de l'espace  $\mathbf{u}'$  vers la direction d'observation  $\mathbf{u}$

$$+ Q(s, \mathbf{u}, t)$$

→ **gain** : terme source éventuellement présent dans l'élément de volume.

⇔

$$\frac{1}{c} \frac{\partial L_v(s, \mathbf{u}, t)}{\partial t} + \mathbf{u} \cdot \nabla L_v(s, \mathbf{u}, t) = -(\mu_a + \mu_s) L_v(s, \mathbf{u}, t) + \frac{\mu_s}{4\pi} \int_{4\pi} p h_v(s, \mathbf{u}', \mathbf{u}) L_v(s, \mathbf{u}', t) d\Omega' ds + Q(s, \mathbf{u}, t)$$

Équation 8

Notons que si la diffusion peut être négligée, on retrouve la loi de Beer-Lambert.

## RESOLUTION DE L'ETR

L'ETR est une équation intégral-différentielle dont la difficulté de résolution tient essentiellement à l'évaluation du terme intégral. Il existe plusieurs méthodes de résolution que l'on peut classer de la façon suivante :

- Méthodes stochastiques (simulations Monte Carlo, Marche au hasard) : elles sont souples, faciles à implémenter, mais les temps de calculs deviennent longs dès que les géométries deviennent complexes. La méthode la plus populaire est la méthode de Monte Carlo, qui «simule» la propagation lumineuse comme celle d'un ensemble de particules classiques (Perelman et al., 1994).
- Discrétisation de l'espace (Méthode des Différences/Volumes Finis, Méthode des Éléments Finis) et/ou angulaire (Méthode des Ordonnées Discrètes (DOM) ou approximation SN (da Silva, 2001; da Silva et al., 2004, 2003a), Méthode de la fonction auxiliaire (da Silva et al., 2003b), approximations PN...): largement utilisées pour des géométries simples, elles conduisent à des expressions semi-analytiques. Elles sont cependant limitées à des géométries simples sinon les temps de calculs deviennent prohibitifs, et la précision elle-même dépend de la discrétisation. On commence actuellement à mettre en œuvre ce type de résolution dans le cadre de l'imagerie optique des milieux épais (Klose, 2003; Klose et al., 2005; Wright et al., 2007), avec des degrés d'approximation plus ou moins forts (on parle de « Dirty RTE »). Notons l'expression totalement développée de la luminance sur différentes bases de fonctions de (Liemert and Kienle, 2012) valable en milieu infini mais qui peut s'avérer pratique dans certaines situations.
- Expressions analytiques en approximations P1, de la Diffusion : faciles à implémenter, mais réservées à des géométries simples et des systèmes diffusants très particuliers, avec une précision limitée si les hypothèses que l'on détaillera ne sont pas satisfaites.
- Méthodes hybrides associant certaines de ces méthodes (DOM+P1, Approximation de la Diffusion +MC...)

Le cadre théorique généralement utilisé en imagerie/diagnostic optique diffuse reste néanmoins celui de l'Approximation de la Diffusion. Pour bien comprendre les hypothèses sous-jacentes, les différentes étapes qui permettent de transformer l'ETR en Equation de Diffusion (ED) sont détaillées ci-après.

## APPROXIMATION PN

L'approximation dite  $P_N$  (Arridge, 1999) est celle que l'on effectue classiquement pour rechercher des solutions analytiques. Elle suppose néanmoins que le système est à symétrie sphérique, autrement dit que tous les diffuseurs sont des sphères. Dans ces conditions, on peut démontrer (théorie de Mie) que le champ électrique diffusé par une particule, et donc la fonction de phase, ne dépend que de l'angle de diffusion  $\theta$  tel que  $\cos(\theta) = \mathbf{u}' \cdot \mathbf{u}$ , et l'on peut alors développer la fonction de phase en série (théoriquement infinie) de polynômes de Legendre  $P_l$  ou en harmoniques sphériques  $Y_{l,m}$ :

$$ph_v(\mathbf{r}, \mathbf{u}', \mathbf{u}) = ph_v(\mathbf{r}, \mathbf{u}' \cdot \mathbf{u}) = \sum_{l=0}^{\infty} g_l(\mathbf{r}) P_l(\mathbf{u}' \cdot \mathbf{u}) = \sum_{l=0}^{\infty} \sum_{m=-l}^l g_l(\mathbf{r}) Y_{l,m}^*(\mathbf{u}') Y_{l,m}(\mathbf{u}) \quad \text{Équation 9}$$

Le symbole \* signifie « complexe conjugué ». En pratique, on tronque la série à un ordre  $N$  fini (d'où le nom «  $P_N$  »), qui dépend de l'anisotropie de la fonction de phase (da Silva, 2001). La forme de ce développement nous incite à développer la luminance et le terme source en harmoniques sphériques:

$$L_v(\mathbf{r}, \mathbf{u}, t) = \sum_{l=0}^N \sum_{m=-l}^l \varphi_{l,m}(\mathbf{r}, t) Y_{l,m}(\mathbf{u})$$

$$Q(\mathbf{r}, \mathbf{u}, t) = \sum_{l=0}^N \sum_{m=-l}^l q_{l,m}(\mathbf{r}, t) Y_{l,m}(\mathbf{u})$$

Équation 10

En réintroduisant les expressions de l'Équation 10 dans l'ETR (Équation 8), et en utilisant les propriétés d'orthogonalité des harmoniques sphériques, on peut simplifier l'ETR. Classiquement, on utilise la fonction de phase de Henyey-Greenstein décrite précédemment et dans ces conditions, les coefficients du développement en polynômes de Legendre (Équation 9) sont simplement les puissances successives du facteur d'anisotropie  $g$  :  $g_l = g^l$ . La propagation dans le milieu diffusant se retrouve ainsi entièrement caractérisée par trois variables,  $\mu_a$ ,  $\mu_s$  et  $g$ .

### APPROXIMATION P1

L'introduction d'une fonction de phase simplifiée ne suffit pas à résoudre le problème de manière suffisamment simple car une mesure angulaire de la luminance est nécessaire. En général, on simplifie encore le problème en considérant des quantités indépendantes de l'angle d'observation. En posant :

(i)  $\Phi(\mathbf{r}, t) = \int_{4\pi} L_v(\mathbf{r}, \mathbf{u}', t) d\Omega'$  [W.cm<sup>-2</sup>], quantité définie comme la « fluence » (*fluence rate* en Anglais) et  $q_o(\mathbf{r}, t) = \int_{4\pi} Q(\mathbf{r}, \mathbf{u}, t) d\Omega'$  [W.cm<sup>-3</sup>],

(ii)  $\mathbf{J}(\mathbf{r}, t) = \int_{4\pi} L_v(\mathbf{r}, \mathbf{u}, t) \mathbf{u}' d\Omega'$ , défini comme le vecteur flux total diffusé dans  $4\pi$  et  $\mathbf{q}_1(\mathbf{r}, t) = \int_{4\pi} Q(\mathbf{r}, \mathbf{u}, t) \mathbf{u}' d\Omega'$ ,

on peut réduire encore le nombre d'inconnues du problème, en utilisant les propriétés des harmoniques sphériques, et en intégrant d'une part, l'ETR (Équation 8) sur  $4\pi$ :

$$\nabla \mathbf{J}(\mathbf{r}, t) + \left[ \frac{1}{c} \frac{\partial}{\partial t} + \mu_a(\mathbf{r}) \right] \Phi(\mathbf{r}, t) = q_o(\mathbf{r}, t)$$

Équation 11

et d'autre part, en multipliant (Équation 8) par  $\mathbf{s}$  et en intégrant  $4\pi$  on obtient :

$$\frac{1}{3} \nabla \Phi(\mathbf{r}, t) + \left[ \frac{1}{c} \frac{\partial}{\partial t} + \mu_a(\mathbf{r}) + \mu'_s(\mathbf{r}) \right] \mathbf{J}(\mathbf{r}, t) = \mathbf{q}_1(\mathbf{r}, t)$$

Équation 12

On se ramène donc ainsi à deux variables,  $\mu_a$  et  $\mu'_s$ . Il s'agit alors de résoudre le système composé de Équation 11 et Équation 12 en éliminant  $\mathbf{J}$ .

### EQUATION DE LA DIFFUSION

L'équation de diffusion résulte des deux approximations suivantes :  $\frac{\partial}{\partial t} \mathbf{J}(\mathbf{r}, t) \approx \mathbf{0}$  et  $\mathbf{q}_1(\mathbf{r}, t) = \mathbf{0}$ . Cela suppose donc que l'on se place dans un domaine où le flux varie lentement en fonction du temps et que la source est isotrope. Dans ces conditions, en posant  $D(\mathbf{r}) = \frac{1}{3(\mu_a(\mathbf{r}) + \mu'_s(\mathbf{r}))}$ , la constante de diffusion, l'Équation 12 prend la forme de la loi de Fick :  $\mathbf{J}(\mathbf{r}, t) = -D(\mathbf{r}) \nabla \Phi(\mathbf{r}, t)$ , et l'Équation 11 prend la forme d'une équation de propagation (équation de la diffusion) pour la fluence:

$$-\nabla D(\mathbf{r}) \nabla \Phi(\mathbf{r}, t) + \left[ \frac{1}{c} \frac{\partial}{\partial t} + \mu_a(\mathbf{r}) \right] \Phi(\mathbf{r}, t) = q_o(\mathbf{r}, t)$$

Équation 13

qui se réécrit, dans le domaine fréquentiel en supposant  $q_0(\mathbf{r}, t) = q_0(\mathbf{r})e^{-i\omega t}$  et  $\Phi(\mathbf{r}, t) = \Phi(\mathbf{r})e^{-i\omega t}$ :

$$-\nabla D(\mathbf{r})\nabla\Phi(\mathbf{r}) + \left[-\frac{i\omega}{c} + \mu_a(\mathbf{r})\right]\Phi(\mathbf{r}) = q_0(\mathbf{r}) \quad \text{Équation 14}$$

C'est donc l'Équation 13 ou Équation 14 que l'on résout préférentiellement lorsque l'on traite de la diffusion en milieux biologiques, principalement parce que ce cadre théorique permet d'établir des solutions analytiques ou semi-analytiques. Dans les tissus biologiques, cela se justifie par le fait que les tissus sont optiquement épais (ce qui nous permet de considérer des phénomènes variant peu dans le temps,  $\frac{\partial}{\partial t}J(\mathbf{r}, t) \approx \mathbf{0}$ ) et que les constituants sont de taille plus faible ou comparable à la longueur d'onde, et donc fortement diffusants. Elles supposent également que l'on considère des sources isotropes ( $\mathbf{q}_1(\mathbf{r}, t) = \mathbf{0}$ ).

---

#### SOLUTIONS ANALYTIQUES EN MILIEU HOMOGÈNE ET INFINI

---

En milieu infini **homogène**  $\nabla D(\mathbf{r}) = \mathbf{0}$ , ces équations prennent une forme d'équation de propagation tout à fait reconnaissable :

$$\frac{1}{c} \frac{\partial \Phi(\mathbf{r}, t)}{\partial t} - D\Delta\Phi(\mathbf{r}, t) + \mu_a\Phi(\mathbf{r}, t) = q_0(\mathbf{r}, t) \quad \text{Équation 15}$$

$$\Delta\Phi(\mathbf{r}) - \left[\frac{\mu_a}{D} - \frac{i\omega}{cD}\right]\Phi(\mathbf{r}) = -\frac{q_0(\mathbf{r})}{D} \quad \text{Équation 16}$$

La solution du problème dépend ensuite de la forme de la source. Si le terme source peut être développé en fonctions de Dirac  $\delta(\mathbf{r} - \mathbf{r}_s)$ , autrement dit une source isotrope ponctuelle placée en  $\mathbf{r}_s$ , alors des solutions analytiques, pour un milieu **infini**, s'exprimant en termes de fonctions de Green, existent (Patterson et al., 1989).

Si l'on considère une source ponctuelle pulsée  $q_0(\mathbf{r}, t) = q_0\delta(\mathbf{r} - \mathbf{r}_s)\delta(t - t_o)$ , la solution de l'Équation 15 est ((Patterson et al., 1989), d'après (Chandrasekhar, 1943)) :

$$\Phi(\mathbf{r}, \mathbf{r}_s, t) = \frac{q_0}{c(4\pi Dc(t-t_o))^{3/2}} \exp(-\mu_a c(t-t_o)) \exp\left(-\frac{|\mathbf{r}-\mathbf{r}_s|^2}{4Dc(t-t_o)}\right) \quad \text{Équation 17}$$

Si l'on considère une source ponctuelle modulée en fréquence  $q_0(\mathbf{r}, t) = q_0\delta(\mathbf{r} - \mathbf{r}_s)e^{-i\omega t}$ , l'Équation 16 devient:

$$\Delta\Phi(\mathbf{r}) - \left[\frac{\mu_a}{D} - \frac{i\omega}{cD}\right]\Phi(\mathbf{r}) = -\frac{q_0\delta(\mathbf{r} - \mathbf{r}_s)}{D} \quad \text{Équation 18}$$

En posant  $k_o^2(\omega) = -\left[\frac{\mu_a}{D} - \frac{i\omega}{cD}\right]$ , on obtient une équation de propagation bien connue :

$$\Delta\Phi(\mathbf{r}) + k_o^2(\omega)\Phi(\mathbf{r}) = -\frac{q_0\delta(\mathbf{r}-\mathbf{r}_s)}{D} \quad \text{Équation 19}$$

on reconnaît la forme de l'équation de Helmholtz, avec un terme source, et la solution de l'équation de diffusion pour un milieu infini et homogène devient:

$$\Phi(\mathbf{r}, \mathbf{r}_s, \omega) = \frac{q_0}{4\pi D} \frac{e^{ik_o(\omega)|\mathbf{r}-\mathbf{r}_s|}}{|\mathbf{r} - \mathbf{r}_s|} \quad \text{Équation 20}$$

---

#### MODELISATION DU TERME SOURCE

---

L'équation de propagation de la fluence, établie dans le cadre de l'approximation de la diffusion, suppose que le terme source est **isotrope** et des solutions analytiques sont ainsi obtenues pour une source **ponctuelle**. En pratique, les dispositifs pour lesquels on peut supposer que les sources sont ponctuelles sont ceux qui utilisent des lasers, sources très

directives, pour une illumination ponctuelle à distance, ou des fibres optiques, en contact avec le milieu, qu'on ne pourra pas supposer isotropes, même si les ouvertures numériques de celles-ci peuvent être larges. Seul le cas de la lentille-boule placée à l'intérieur du milieu permet de simuler au mieux le cas de la source isotrope.

Parmi les différents modèles approchés de sources, le plus largement retenu est celui de la source ponctuelle placée à une distance de un libre parcours moyen de transport derrière la surface d'interaction :  $z_o = 1/\mu'_s$  (Farrell and Patterson, 1992; Patterson et al., 1989). La raison intuitive généralement invoquée est qu'il s'agit globalement de la distance au bout de laquelle les photons ont perdu toute mémoire de la direction initiale. Le fait est que cette valeur se retrouve expérimentalement, même avec des mesures réalisées avec des fibres optiques plongée dans le milieu diffusant (Laidevant et al., 2006a). Par ajustement de données avec des simulations de Monte Carlo, (Wang and Jacques, 1995), en réflectance oblique, ont déterminé la distance  $z_o = 1/(\mu'_s + 0.35\mu_a)$ , tandis que (Intes et al., 1999), par ajustement avec des données expérimentales, préconisent  $z_o = 1.5/\mu'_s$ .

Ceci montre que la question de la prise en compte d'une source anisotrope dans le cadre de l'approximation de la diffusion est toujours d'actualité.

#### CONDITIONS AUX LIMITES

Il s'agit ici de déterminer des solutions pour des milieux « bornés », autrement dit prendre en compte des interfaces entre milieu diffusant et non-diffusant (conditions aux limites). En toute rigueur, il faudrait revenir à Équation 13 ou Équation 14 et les résoudre en prenant en compte les conditions aux limites. Le problème se pose alors de définir des conditions au niveau des interfaces pour une onde qui a perdu toute notion de direction. Si on parle de luminance  $L_v(\mathbf{r}, \mathbf{u}, t)$ , il suffit de faire le bilan énergétique à l'interface (coefficients de réflexion et de transmission de Fresnel). Si en revanche, on veut continuer à exprimer le problème en terme de fluence  $\Phi(\mathbf{r}, t)$ , on doit rechercher des solutions approchées puisque la notion de « direction » de propagation est perdue quand on considère cette quantité. La condition exacte à réaliser à l'interface entre un milieu diffusant et un milieu non diffusant serait qu'il ne doit pas y avoir de **luminance diffuse revenant dans le milieu** (Ishimaru, 1978), soit :

$$L(\mathbf{r}_{surf}, \mathbf{u}, t) = 0, \forall \mathbf{r}_{surf} \in \partial\Omega, \forall \mathbf{u} / \mathbf{u} \cdot \mathbf{n} > 0 \quad \text{Équation 21}$$

selon les notations de la figure ci-après :

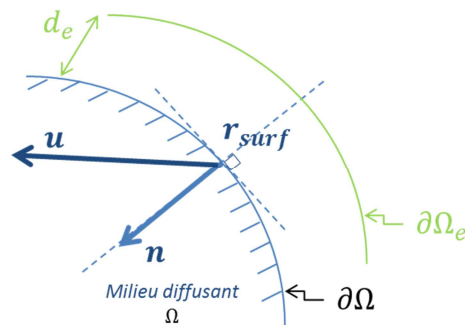


Figure 8 : Notations pour les conditions aux limites.

Dans le cadre de l'approximation  $P_1$ , on peut exprimer  $L$  en termes de fluence  $\Phi$  et de flux  $J$  (développement (16) au 1<sup>er</sup> ordre) :

$$L(\mathbf{r}, \mathbf{u}, t) = \frac{1}{4\pi} \Phi(\mathbf{r}, t) + \frac{3}{4\pi} J(\mathbf{r}, t) \cdot \mathbf{u} \quad \text{Équation 22}$$

La luminance se ramène donc, dans cette approximation, à la somme de deux termes, une partie indépendante de la direction, proportionnelle à la fluence, et une seconde rendant compte d'une faible anisotropie, et proportionnelle au flux dans la direction  $\mathbf{u}$ . La condition Équation 21 ne peut dans ces conditions être satisfaite exactement. A partir de là, plusieurs approximations peuvent être réalisées pour exprimer au mieux les conditions aux limites permettant d'approximer la solution du problème.

#### CONDITIONS AUX LIMITES DE COURANT PARTIEL

L'une des conditions aux limites approchées consiste à dire que le **flux** (et non la luminance) **total diffus entrant est nul** à l'interface. C'est ce qu'on appelle parfois la condition aux limites de courant partiel (en Anglais, *partial current boundary condition* notée PCBC). Ayant dit cela, on obtient :

$$\int_{\mathbf{u} \cdot \mathbf{n} > 0} L(\mathbf{r}, \mathbf{u}, t)(\mathbf{u} \cdot \mathbf{n}) d\Omega = 0 \quad \text{Équation 23}$$

En tenant compte des réflexions aux interfaces, s'il existe un contraste d'indice entre le milieu diffusant et non diffusant, cette condition s'écrit :

$$\int_{\mathbf{u} \cdot \mathbf{n} > 0} L(\mathbf{r}, \mathbf{u}, t)(\mathbf{u} \cdot \mathbf{n}) d\Omega = \int_{\mathbf{u} \cdot \mathbf{n} < 0} R(\mathbf{u} \cdot \mathbf{n}) L(\mathbf{r}, \mathbf{u}, t)(\mathbf{u} \cdot \mathbf{n}) d\Omega \quad \text{Équation 24}$$

où  $R(\mathbf{u} \cdot \mathbf{n})$  est le facteur de réflexion en intensité exprimé au point de l'interface considéré. En remplaçant la luminance par son expression (Équation 22):

$$\Phi(\mathbf{r}_{surf}, t) = -2A(\mathbf{r}_{surf})D(\mathbf{r}_{surf})\nabla\Phi(\mathbf{r}_{surf}, t) \cdot \mathbf{n}, \quad \forall \mathbf{r}_{surf} \in \partial\Omega \quad \text{Équation 25}$$

$A$  est une fonction dépendant des indices relatifs entre le milieu diffusant et le milieu externe. Elle prend la forme mathématique de ce qu'on appelle une condition aux limites de Robin.

#### CONDITIONS AUX LIMITES EXTRAPOLEES

En Anglais, *Extrapolated Boundary Condition*, notée EBC. L'idée est de résoudre le problème de Milne (Milne, 1921), et de rechercher une solution satisfaisant la condition aux limites suivantes :

$$\Phi(\mathbf{r}_{surf}, t) = 0, \forall \mathbf{r}_{surf} \in \partial\Omega_e \quad \text{Équation 26}$$

où la surface  $\partial\Omega_e$  est une surface fictive, placée à la distance extrapolée  $d_e$  de la frontière vraie du milieu diffusant réel, et à laquelle la fluence s'annule.

Formulé à l'origine pour la diffusion de neutrons (Milne, 1921), dans un milieu semi-infini, sans contraste d'indice, faiblement absorbant et à diffusion isotrope (Case and Zweifel, 1967), en considérant une source à l'infini :

$$d_{e,Milne} \approx \frac{1}{\mu_s} 0.710446 [1 - 0.0199(1 - a)^2 + \dots], a = \frac{\mu_s}{\mu_a + \mu_s} \quad \text{Équation 27}$$

et adapté pour la diffusion lumineuse avec toutes ses spécificités (absorption, anisotropie), dans le cadre de l'approximation  $P_1$ , en milieu simplement borné (Marshak, 1947), adapté pour un milieu à contraste d'indice à l'interface (Moulton, 1990) :

$$d_{e,Marshak} = \sqrt{\frac{D}{\mu_a}} \tanh^{-1}(2A\sqrt{D\mu_a})$$

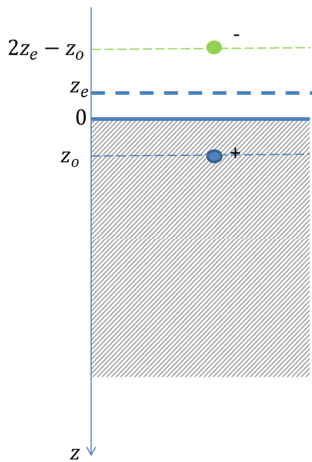
$$\approx 2AD \left[ 1 + \frac{4}{3}(A^2 D \mu_a) + \frac{16}{5}(A^2 D \mu_a)^2 + \dots \right], \mu_a \approx 0$$

Équation 28

où  $A$  est la même constante que dans la condition PCBC, tenant compte de la réflexion à l'interface. Ainsi, dans l'approche EBC, tout se passe comme si on satisfaisait une condition aux limites de Dirichlet ( $\Phi(r_{surf}, t) = 0$ ) sur la surface d'un milieu dilaté d'une épaisseur  $2AD$ , ce qui est moins coûteux en temps de calcul en général. Notons que l'on retrouve la même distance remarquable  $2AD$  que dans la condition aux limites PCBC, déduite de l'approximation de la diffusion.

#### SOLUTIONS ANALYTIQUES EN MILIEU HOMOGENE ET FINI

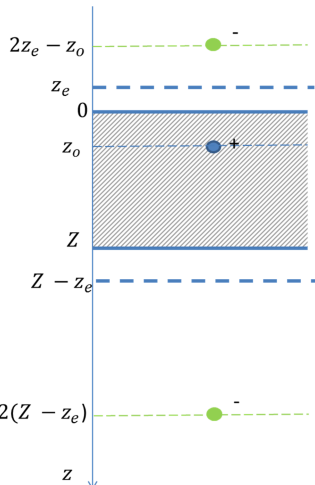
L'avantage particulier de l'EBC est qu'elle permet de formuler des solutions analytiques dans des milieux un peu plus complexes (semi-infini, lames à faces parallèles (*slab* en Anglais)...) à partir de la simple connaissance de la solution en milieu infini, en utilisant la *méthode des sources images*, largement utilisée dans d'autres domaines (acoustique, électrostatique). L'idée est de rechercher des solutions à partir de la solution en milieu infini en ajoutant comme contrainte la condition aux limites EBC.



*Milieu semi-infini.* Si l'on considère une source ponctuelle placée à une position  $r_s = (\rho = 0, z_0)$ , dans le milieu diffusant (notations figure ci-contre). On cherche la solution  $\Phi(r, t)$  sous forme de somme de la solution en milieu infini, notée  $\Phi_\infty$  (Équation 20) et une solution particulière satisfaisant la condition aux limites EBC :

$$\Phi(\rho, z, t) = \Phi_\infty(\rho, z, z_0, t) + w(\rho, z, t) \quad \text{Équation 29}$$

avec la condition  $\Phi(\rho, z_e, t) = 0$ , où  $z_e$  est la position de la frontière extrapolée. On montre que (Eason et al., 1978) une solution du problème consiste à considérer une source à contribution négative placée symétriquement par rapport à la surface extrapolée de manière à satisfaire à la fois l'équation de diffusion et sa condition aux limite :



$$\Phi(\rho, z, t) = \Phi_\infty(\rho, z, z_+, t) - \Phi_\infty(\rho, z, z_-, t)$$

$$= \frac{q_0}{c(4\pi Dc(t-t_0))^{3/2}} \exp(-\mu_a c(t-t_0)) \left\{ \exp\left(-\frac{\rho^2 + (z-z_+)^2}{4Dc(t-t_0)}\right) - \exp\left(-\frac{\rho^2 + (z-z_-)^2}{4Dc(t-t_0)}\right) \right\}$$

Équation 30

où  $z_+ = z_0$  et  $z_- = 2z_e - z_0$ .

*Milieu plan à faces parallèles.* Le milieu est borné dans la direction  $z$  par deux interfaces. Si l'on procède de la même façon que pour le milieu semi-infini, il faut également prendre en



compte la contribution de la deuxième interface, en ajoutant également une contribution négative par une source fictive, symétrique de la source vraie par rapport à la seconde interface. L'ajout de cette source secondaire déséquilibre le bilan établi ci-dessus, la condition aux limites n'est plus satisfaite. Pour rééquilibrer le bilan, il faut ajouter une source fictive mais à contribution « positive » par symétrie par rapport à la 1<sup>ère</sup> interface, et ainsi de suite. La solution ainsi établie est une somme infinie de contributions de sources fictives :

$$\Phi(\rho, z, t) = \sum_{n=1}^{\infty} [\Phi_{\infty}(\rho, z, z_{n+}, t) - \Phi_{\infty}(\rho, z, z_{n-}, t)] \quad \text{Équation 31}$$

En pratique, les sources fictives étant de plus en plus éloignées, la solution étant de forme exponentielle, le nombre de dipôles nécessaire dépend de l'épaisseur du milieu mais il est en général limité.

On peut généraliser la méthode et procéder de la sorte pour toute autre géométrie, la difficulté étant de chercher à positionner correctement les sources images (bien souvent par des méthodes de tracé de rayon).

#### QUANTITE MESURABLE

Cette question a été spécifiquement traitée dans le cadre de la thèse de (Laidevant, 2006) et de (Ducros, 2009). Elle s'est posée car les schémas de reconstruction, dans l'approximation de la diffusion, que l'on trouve dans la littérature se basent de manière quasi-exclusive sur le calcul de la fluence seule. Exprimer les solutions en termes de fluence n'est cependant pas suffisant pour faire le lien avec la quantité photométrique mesurable, à savoir la luminance (Équation 22). Si les mesures sont prises à la surface du milieu, les conditions aux limites de Robin nous permettent d'écrire :

$$L(\mathbf{r}_{surf}, \mathbf{u}, t) \propto \Phi(\mathbf{r}_{surf}, t) \quad \text{Équation 32}$$

Le coefficient de proportionnalité dépendant la direction  $\mathbf{u}$ . Cependant, en règle générale, il est souvent important de savoir exprimer cette quantité mesurable en tout point du milieu, notamment lorsqu'il s'agit de résoudre le problème de tomographie. Dans le cas général, on peut montrer que la quantité mesurée par un détecteur d'angle solide  $\Omega_f$  et de surface d'acceptance  $A_f$  s'écrit (Laidevant et al., 2006a) :

$$signal(\mathbf{r}, t) = \int_{A_f} dx dy \int_{\Omega_f} T(\mathbf{u}, \mathbf{n}) L(\mathbf{r}, \mathbf{u}, t) (\mathbf{u}, \mathbf{n}) d\Omega \quad \text{Équation 33}$$

où  $T$  est la transmittance. Ceci conduit à l'expression :

$$signal(\mathbf{r}, t) \propto \Phi(\mathbf{r}, t) + 3DC \mathbf{J}(\mathbf{r}, t) \cdot \mathbf{u} \quad \text{Équation 34}$$

où  $C = \int_0^{\theta_f} T(\theta') \sin \theta' (1 - n_0^2/n^2 \sin^2 \theta') d\theta' / \int_0^{\theta_f} T(\theta') \sin \theta' (1 - n_0^2/n^2 \sin^2 \theta')^{1/2} d\theta'$  et  $D$  la constante de diffusion. Cette expression est plus rarement utilisée car elle nécessite de calculer explicitement deux quantités au lieu d'une seule : la fluence et le flux de photons. (Ducros et al., 2008) fait une étude qualitative et quantitative sur les erreurs commises en prenant pour approximation pour la quantité mesurable l'un ou l'autre de ces termes. (Nicolas Ducros et al., 2009) montre explicitement l'impact de ces approximations sur des reconstructions en tomographie diffuse optique de fluorescence. En outre, il montre que l'approximation

généralement faite, qui consiste à ne garder que le terme de fluence est meilleure que celle qui ne garde que le terme en flux.

## II. SYSTEMES D'IMAGERIE OPTIQUE DIFFUSES

Des revues très détaillées présentent l'état de l'art de l'imagerie optique des tissus biologiques (Hebden et al., 1997; Arridge and Hebden, 1997; Gibson et al., 2005; Hielscher, 2005; Boas et al., 2001). Comme pour la tomographie préclinique sur le petit animal, on trouve les mêmes types d'instruments s'appuyant sur un système d'éclairage continu, modulé en amplitude à une fréquence donnée ou impulsif, et ceci avec des sophistications liées à la tomographie des structures profondes. Dans la mesure du possible, on profite des marqueurs intrinsèques, en déterminant les contrastes d'absorption et de diffusion. Certaines techniques portent également sur l'analyse (spectrale) de la fluorescence endogène, permettant par exemple une discrimination entre tissu sain et malade (Péry et al., 2008).

Le passage à l'imagerie du corps humain s'accompagne de nouvelles problématiques. Les milieux à sonder sont beaucoup plus épais, ce qui s'accompagne de systèmes de mesures de plus en plus sophistiqués, avec des volumes de données conséquents. Il faut alors prendre en compte des problèmes de temps de calculs et de compression de données. L'utilisation de marqueurs fluorescents suffisamment furtifs n'est pas encore possible à l'heure actuelle. C'est un enjeu majeur pour la recherche en photochimie.

On peut classer les différentes techniques de mesures optiques selon quatre grandes familles :

- DOS/NIRS : spectroscopie optique diffuse (*Diffuse Optical Spectroscopy* en Anglais) ou spectroscopie proche-infrarouge (*Near Infra-Red Spectroscopy* en Anglais) basée sur l'exploitation directe ou semi-directe des mesures en périphérie pour la détermination des propriétés optiques des tissus et en particulier de la concentration de certains chromophores.
- DOT : tomographie optique diffuse (*Diffuse Optical Tomography* en Anglais), est la sophistication de la méthode DOS/NIRS, basée sur des mesures plus complètes pour permettre une reconstruction 3D des paramètres.
- FDOT/FMT : tomographie optique diffuse de fluorescence (*Fluorescence Diffuse Optical Tomography* ou *Fluorescence Mediated Tomography* ou *Fluorescence Molecular Tomography* en Anglais), basée sur le principe de tomographie optique diffuse, avec un filtre sur la mesure pour la détection du signal diffus émis par les marqueurs fluorescents. Le principe est globalement le même que celui de la DOT, mais les paramètres à reconstruire sont différents.
- DCS/DCT : spectroscopie/tomographie de corrélation diffuse (*Diffuse Correlation Spectroscopy*), qui apporte une information dynamique spécifique sur le mouvement des particules diffusantes, via la quantification d'un paramètre lié au déplacement des diffuseurs noté  $\langle \Delta r^2(\tau) \rangle$ .

### DOS/NIRS

Les systèmes DOS/NIRS sont des instruments composés d'un ensemble de sources et de détecteurs ponctuels. Ils permettent d'effectuer un examen longitudinal et/ou spectroscopique par le biais des coefficients d'absorption  $\mu_a$  et/ou de diffusion  $\mu'_s$ .

Le système le plus simple est composé d'une paire unique de source et détecteur. L'instrument de référence qui a connu le plus grand succès commercial est l'oxymètre de pouls (Figure 9). Une simple mesure réalisée à deux longueurs d'onde permet d'obtenir les concentrations en hémoglobine oxy- ( $[\text{HbO}_2]$ ) et désoxygénée ( $[\text{Hb}]$ ), et par conséquent d'en déduire le taux de saturation en oxygène. Ce même type de dispositif est par ailleurs très largement utilisé pour déterminer les propriétés optiques des tissus biologiques. Citons par exemple un autre système largement disponible dans les maternités, le Bilichek® pour le dosage, chez les nouveaux-nés, de la bilirubine, pigment jaune produit de dégradation des globules rouges dont l'accumulation anormale dans le sang et les tissus détermine un ictère (ou « jaunisse »).



Figure 9 : Deux grands succès commerciaux : l'oxymètre de pouls et le Bilichek®.

En plaçant une source (laser, ou *via* une fibre optique) à la surface d'un tissu biologique, et un détecteur (*via* une fibre optique, ou une caméra CCD si la zone est plus large) à une certaine distance, on peut remonter à la mesure des propriétés optiques d'absorption, de diffusion, et le cas échéant de fluorescence. L'hypothèse faite ici est que le milieu est homogène : cette technique apportera donc une information moyenne sur les propriétés optiques. La nature diffusante du tissu permet un examen en transmission mais aussi en réflexion. La Figure 10 représente la sensibilité d'une mesure d'intensité réalisée à la surface d'un tissu biologique au changement de coefficient d'absorption ( $\partial\phi/\partial\mu_a$ ). Le volume sondé dépend de la forme du milieu, de la distance source-détecteur, et des propriétés optiques du milieu.

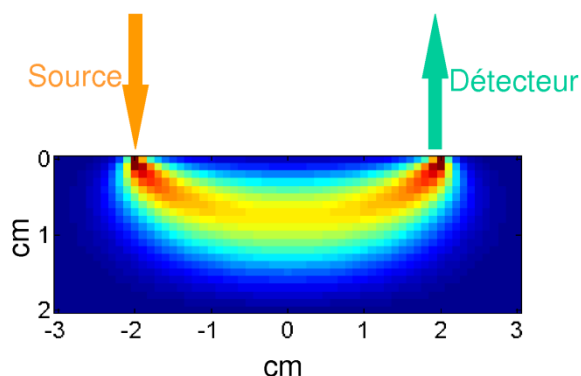


Figure 10 : Une source et un détecteur placés à la surface d'un tissu biologique permettent de sonder les propriétés optiques du tissu dans un volume défini. La matrice de sensibilité aux variations d'absorption des mesures d'intensité

est représentée ci-dessus. Elle dépend de la géométrie du milieu, de la distance source détecteur, ainsi que des propriétés optiques.

Cette technique est principalement utilisée pour faire un suivi hémodynamique, pour étudier les variations en oxy- ( $\text{HbO}_2$ ) et déoxyhémoglobine (Hb)(Cope and Delpy, 1988). Elle est utilisée pour des études de fonctions d'activation pour l'examen du cerveau des enfants et des adultes dans l'évaluation de la réponse à un stimulus (visuel, moteur...) (Meek et al., 1995)(D.A. Boas et al., 2001; Devor et al., 2003; Turgut Durduran et al., 2010; Maris et al., 1994). Des mesures globales sur le sein ont été réalisées dans le but de caractériser les propriétés optiques en fonction de l'âge et du cycle menstruel (Cerussi et al., 2001). Ce type de mesure est effectué pour la détermination des propriétés optiques de certains organes, par voie externe, mais également par endoscopie (Bigio et al., 1996; Mourant et al., 1995).

La technique a été sophistiquée en plaçant un réseau de sources et détecteurs à la surface d'un organe, cette technique consiste à cartographier les propriétés optiques moyennes des volumes situés sous chaque paire source-détecteur. On utilise ici le terme de **topographie** de l'organe (pour accentuer la distinction avec la tomographie). La Figure 11 montre différents types d'arrangements sources-détecteurs pour la topographie du cortex utilisés par (Yamashita et al., 1996) (grille) et (Franceschini et al., 2000) (cercles). En comparaison à une méthode ponctuelle, ce type de cartographie permet de comparer des zones d'activation à des zones non activées.

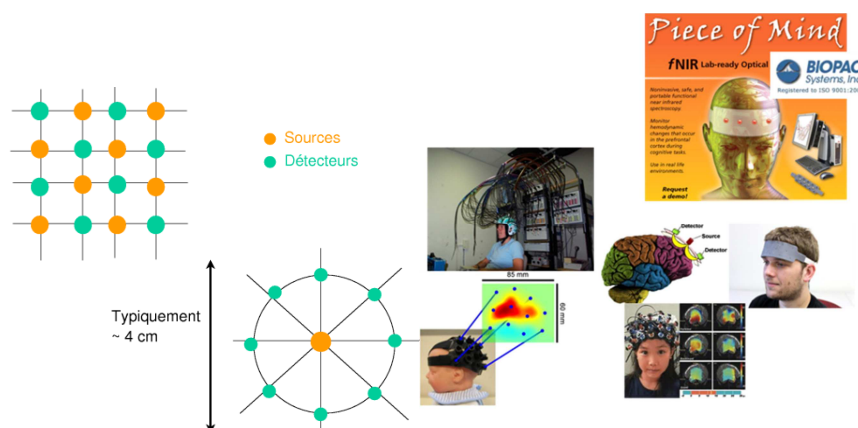


Figure 11 Différentes géométries d'acquisitions en topographie optique (gauche) et exemple de système utilisé pour l'examen du cerveau humain dont certains sont commercialisés (Biopac Systems, Inc).

Les techniques topographiques sont largement utilisées en neurosciences pour le suivi de l'activité cérébrale, ou pour l'examen de l'activité musculaire (Maris et al., 1994).

## DOT

L'approche **tomographique** est une méthode plus complète qui suppose l'utilisation d'une large variété de paires source-détecteur afin de remonter à une distribution tridimensionnelle (3D) des propriétés optiques. Il existe plusieurs possibilités d'arrangements des sources et détecteurs autour de l'objet. Dans la mesure du possible, on se place en transmission et en réflexion, et on essaie d'examiner l'organe sous tous les angles. Il est cependant, sous certaines conditions, intéressant de simplifier la géométrie d'acquisition, et une géométrie plane est parfois suffisante, compte tenu des faibles résolutions aujourd'hui atteintes. La Figure 12 illustre ces deux modes d'acquisition.

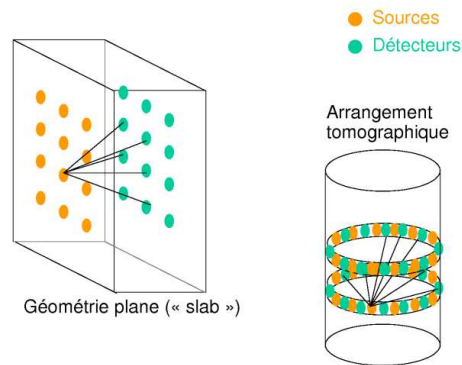


Figure 12 : Géométries d'acquisitions pour la tomographie optique.

La géométrie planaire ("slab" en Anglais) est classiquement utilisée pour l'examen du sein (comprimé) (Ntziachristos et al., 1998; Rinneberg et al., 1998). La distribution tomographique classique est également utilisée pour l'imagerie du sein (Hebden et al., 2001; Hoogenraad et al., 1997). (B. Pogue et al., 1999) donnent une comparaison des effets des différentes géométries sur la qualité des reconstructions. Cette géométrie est également bien adaptée à l'examen des doigts (Klose et al., 1998) (propriétés du fluide synovial dans les jointures arthritiques) ou du bras (Hillman et al., 2001).

Les tissus étudiés peuvent être très épais, mais les résolutions spatiales ne sont pas encore totalement satisfaisantes, notamment en matière de détection précoce de cancers (de l'ordre du centimètre). Cette méthode trouve essentiellement ses applications pour la détection et l'étude de tumeurs du sein, ainsi que l'imagerie fonctionnelle du cerveau. Plus récemment, elle est également utilisée pour l'examen de la prostate à l'aide de sondes endoscopiques. C'est une application émergente, à laquelle s'intéressent des équipes ayant par ailleurs déjà développé des instruments pour le sein ou le cerveau (Arridge, 1999)(Arridge, 1993; Boas et al., 2001; Villringer and Chance, 1997). Ces travaux préliminaires se rapportent à la détermination des propriétés optiques des tissus *in situ*, via des sondes développées spécifiquement, mais non encore testées sur l'humain, pilotées par caméra (fréquence 8Hz), ou bien des sondes utilisant celles de la brachythérapie (Piao et al., 2006) ou de la PDT (Svensson and al., 2006) (photothérapie dynamique), d'autres prototypes proposent un couplage avec des sondes ultrasonores endorectales (Laidevant et al., 2011), permettant ainsi de compléter le diagnostic ultrasonore conventionnel.

## FDOT/FMT

La tomographie optique diffuse de fluorescence est une technique globalement dérivée de la DOT, avec les mêmes principes physiques de propagation en milieu fortement diffusant (cf. Figure 13) et les mêmes dispositifs instrumentaux.

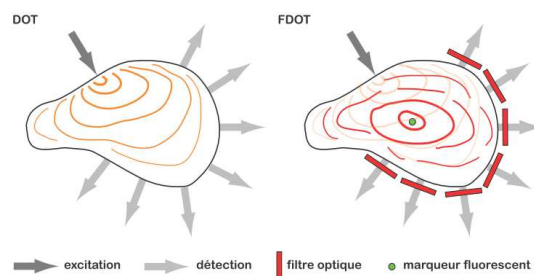
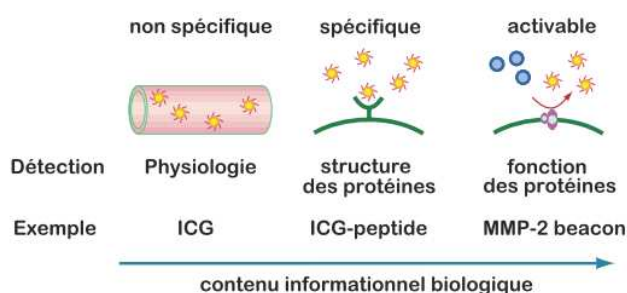


Figure 13 : Comparaison entre les principes DOT et FDOT (extrait de (Ducros, 2009).

La lumière d'excitation, à la longueur d'onde  $\lambda_x$  (en orange sur la Figure 13) excite les marqueurs fluorescents : selon le diagramme de Jablonski (Figure 4), une portion de ce rayonnement est absorbée. Les molécules se désexcitent progressivement en restant dans les niveaux vibrationnels, puis, après un temps de vie  $\tau$ , elles rejoignent leur niveau fondamental par émission de photons (désexcitation radiative en rouge sur la Figure 13) à la longueur d'onde  $\lambda_m > \lambda_x$  (Figure 4).

Développée depuis le milieu des années 90 (Hutchinson et al., 1995; Seavick-Muraca and Burch, 1994), elle a connu un fort essor dans les années 2000 (Godavarty et al., 2003; Ntziachristos and Weissleder, 2001), avec l'impulsion donnée par le développement de marqueurs fluorescents pour la gamme rouge-proche-infrarouge, fonctionnalisés pour le marquage spécifique de protéines, de plus en plus performant en terme de rendement quantique et activable (fluorescence relarguée localement) (Weissleder and Ntziachristos, 2003). Ces « smart-probes » ou « molecular beacons » permettent à l'imagerie optique diffuse d'entrer dans le cercle des techniques d'imagerie moléculaire.



**FIGURE I.5** – Différents types d'agents fluorescents organiques utilisés en FDOT. Cette figure, traduit en français, a été originellement publiée par Weissleder (2001).

Figure 14 : Extrait de (Ducros, 2009).

Malgré quelques tentatives de transfert à l'examen clinique chez l'humain, avec l'utilisation de l'ICG, non fonctionnalisé ((Corlu et al., 2007), voir (Grosenick et al., 2012) pour un état de l'art récent sur les applications cliniques de l'ICG, ou de ses dérivés tels que l'omocyanine (ou TSC) de Bayer Schering Pharma), cette technique reste limitée à l'examen du petit animal. On note dans ce domaine de grands succès commerciaux (citons par exemple le système Optix MX3, ART Recherches et Technologies Avancées Inc, au Canada, <http://www.art.ca/fr/preclinique/index.php>; le système Caliper/Xenogen IVIS®SPECTRUM, largement distribué sur les plateformes d'imagerie).

## DCS

Elle permet d'accéder à une quantification du flux sanguin (Durduran et al., 2004)(Turgut Durduran et al., 2010). Elle est basée sur la détection explicite de la fonction d'auto-corrélation temporelle des intensités,  $g_2(\tau) = \langle I(t)I(t+\tau) \rangle / \langle I(t) \rangle^2$ ,  $I(t) = |E(t)|^2$ , qui est globalement proportionnelle au carré de la fonction d'auto-corrélation temporelle des champs électriques multiplement diffusés  $g_1(\tau) = \langle E^*(t)E(t+\tau) \rangle / \langle |E(t)|^2 \rangle$ , en invoquant la relation de Siegert:  $g_2(\tau) = 1 + \beta |g_1(\tau)|^2$ . On montre que, formellement, la fonction d'auto-corrélation de champs suit également l'ETR, et avec le même raisonnement et les mêmes hypothèses l'équation de diffusion, avec cependant, des paramètres contenant l'information sur le déplacement des diffuseurs noté  $\langle \Delta r^2(\tau) \rangle$ .

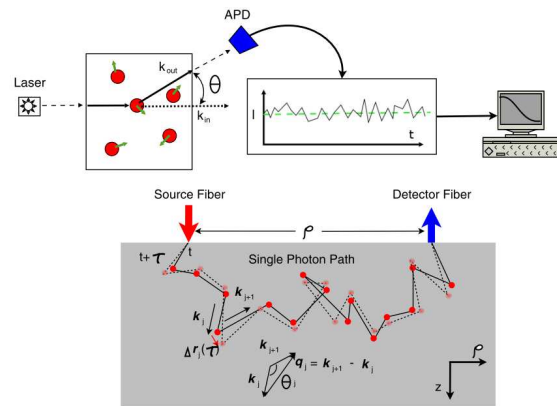


Figure 15 : Illustration du principe de mesure en DCS extrait de (T Durduran et al., 2010).

## CW, FD, TD : DIFFERENTES INFORMATIONS SELON LE TYPE DE SOURCES ET DE DETECTEURS

Pour faire de l'imagerie optique diffuse, on peut utiliser trois types de sources : i) continue, à une ou plusieurs longueurs d'onde (spectroscopie); ii) d'intensité modulée à une ou plusieurs fréquences ; iii) ou encore impulsionnelle. Intuitivement, on comprend que la quantité d'informations augmente à mesure que la technologie est de plus en plus sophistiquée (Figure 16) : en continu, on ne mesure que l'atténuation du faisceau, ce qui ne permet pas de discriminer l'atténuation liée à l'absorption ou à la diffusion ; en fréquentiel, on peut de surcroît mesurer le déphasage, ce qui apporte une information supplémentaire permettant de remonter aux paramètres d'absorption et de diffusion ; les méthodes temporelles sont de loin les plus riches d'information, puisqu'elles contiennent en une seule mesure toutes les fréquences de modulation (transformée de Fourier).

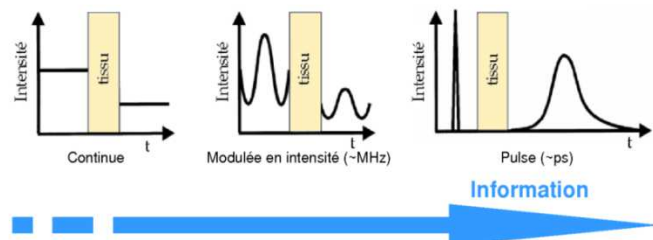


Figure 16 : Schéma intuitif décrivant les différentes techniques pour l'examen des tissus biologiques en fonction de la quantité d'information véhiculée par chacune.

**Continue** (Continuous wave CW en Anglais). Les variations d'absorption peuvent être obtenues en utilisant une loi de Beer-Lambert quelque peu modifiée de la diffusion (Arridge et al., 1992) en considérant des géométries simples. Pour des géométries plus complexes, il faut résoudre le problème inverse en comparant les mesures d'atténuation à un modèle analytique ou numérique de propagation de la lumière. Il n'est pas possible de déterminer simultanément avec ce type de mesure le coefficient d'absorption  $\mu_a$  et le coefficient de diffusion  $\mu'_s$  (Arridge and Lionheart, 1998).

Un système d'éclairage continu est donc envisageable, à condition de travailler i) à plusieurs longueurs d'onde (résolution spectrale) ; ii) sans marqueurs fluorescents (on perd l'information sur les temps de vie des fluorophores). La résolution spectrale permet en effet de discriminer les propriétés de diffusion des propriétés d'absorption des tissus et donc d'envisager une tomographie basée sur les contrastes optiques liés aux tumeurs. C'est le principe des tomographes développés à l'Université de Pennsylvanie (<http://www.lrsn.upenn.edu/pmi/>,



n.d.) (laboratoire de B. Chance et A. Yodh) dédiés à l'observation du cerveau et du sein (voir en particulier la thèse de (Choe, 2005)), et de ceux de Dartmouth College ([http://www-nml.dartmouth.edu/nir/puls.html](http://www-nml.dartmouth.edu/nir/pubs.html), n.d.), pour l'imagerie du sein principalement. Ce dernier a été miniaturisé et adapté sous forme de sonde pour l'imagerie de la prostate. Le système de la société Philips, Optical Mammoscope, fonctionne également sur le même principe, à 3 longueurs d'onde.

**Domaine fréquentiel.** De la même façon, on peut extraire de manière globale  $\mu_a$  et  $\mu'_s$  en ajustant les mesures à un modèle de propagation adéquat. Les mesures indépendantes de l'atténuation d'un côté et du déphasage de l'autre, offre la possibilité de discriminer  $\mu_a$  et  $\mu'_s$ . Cependant, le rapport signal sur bruit (S/B) de la mesure du déphasage est souvent faible. La fréquence de modulation choisie détermine la résolution, ainsi que la sensibilité aux variations d'absorption et de diffusion. Le S/B diminue néanmoins à mesure que la fréquence augmente (Boas, 1996). Les fréquences utilisées se situent classiquement autour de 100 MHz jusqu'à quelques GHz.

En imagerie de fluorescence, cette approche permet en théorie de résoudre à la fois les propriétés optiques du milieu (absorption, diffusion) et les propriétés liées aux fluorophores (concentration locale, temps de vie). Seule l'équipe de E. Sevick-Muraca utilise cette approche en fluorescence et se prépare pour la tomographie du sein avec injection de marqueurs. L'Equipe de D. Boas (<http://www.nmr.mgh.harvard.edu/DOT/>, n.d.) travaille également en fréquentiel, mais sans marqueurs, pour l'imagerie du sein (compressé) ou du cerveau (systèmes fibrés). Avec cette approche, cette équipe s'intéresse essentiellement à l'évolution temporelle des paramètres sanguins (hémodynamique) et effectue pour cela une topographie de la région à imager (Figure 11).

**Domaine temporel.** Il s'agit de mesurer le temps que met un photon pour se propager dans le milieu, en illuminant le milieu à l'aide d'un pulse de lumière et en utilisant un détecteur rapide pour mesurer la déformation temporelle du pulse à la traversée du tissu. Le pulse déformé (en Anglais TPSF pour Temporal Point Spread Function) représente l'histogramme du temps d'arrivée des photons. L'intégrale de ce signal (nombre total de photons mesurés dans la TPSF) représente le signal continu. Les composantes fréquentielles peuvent être extraites par transformées de Fourier à la fréquence voulue. Ici encore, on peut déterminer les images de  $\mu_a$  et  $\mu'_s$  par résolution du problème inverse (Falconet et al., 2008). La Figure 17 décrit schématiquement la déformation du pulse à la traversée de différents tissus.

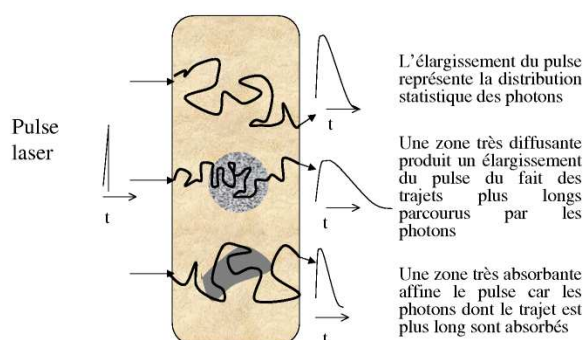


Figure 17 : L'élargissement d'un pulse laser à travers un tissu biologique dépend de la structure interne du milieu.



Les sources sont généralement des lasers ou diodes lasers pulsés, avec une largeur de pulse typique de quelques picosecondes, et un taux de répétition de 40 à 80 MHz et une puissance moyenne de 40mW. Le détecteur peut être analogique (caméra à balayage de fente ou streak camera en Anglais (Hebden et al., 1995; Zint et al., 2001)) ou digitale (TCSPC pour Time Correlated System Photon Counting, système à comptage de photon (Hillman et al., 2000)).

La technique temporelle est la technique de prédilection lorsqu'il s'agit de travailler en mode fluorescent car le signal mesuré contient potentiellement toutes les informations sur la structure du milieu et des fluorophores. La société canadienne ART (Recherches et Technologies Avancées) Inc. (<http://www.art.ca>, n.d.), qui dispose aujourd'hui d'un tomographe optique moléculaire pour le petit animal (eXplore Optix<sup>MC</sup>), a également développé un mammographe (SoftScan<sup>®</sup>) basé sur les travaux de D. J. Hall (Hall and al., 2006; Hall et al., 2004). D. Boas s'intéresse également au problème pour l'imagerie du cerveau (Selb and al., 2006a, 2006b), afin de faire évoluer les systèmes hémodynamiques vers une résolution en profondeur. Un algorithme de reconstruction 3D est à l'étude. Le système MONSTIR de University College London développé pour l'imagerie du sein et du cerveau des nouveaux nés est le système le plus accompli, et le plus ancien. L'algorithme de reconstruction (TOAST) est néanmoins basé sur une résolution de l'équation de diffusion par la méthode des éléments finis, ce qui mène à des temps de calculs longs quand on souhaite faire du 3D. L'Equipe du R. Cubeddu à Milan possède un système de mammographie par compression (durée d'un examen : environ 5 min). Il fonctionne à 4 longueurs d'onde et permet la discrimination entre les propriétés de diffusion et d'absorption de l'hémoglobine oxygénée et désoxygénée, de l'eau et des lipides. Il n'est pas encore associé aujourd'hui à un algorithme de reconstruction 3D (Taroni et al., 2005). Le Tableau 3 résume succinctement les caractéristiques de ces techniques.

Tableau 3 : Techniques d'imagerie optique diffuse

Technique	Paramètres	Commentaires
DOS/NIRS	$\mu_a, \mu'_s$ , concentration en chromophores ([HbO <sub>2</sub> ], [Hb], [SO <sub>2</sub> ]=taux d'oxygénation du sang)	Cartes 2D, en valeur moyenne, évolution temporelle, mesures spectrales
DOT	$\mu_a(\mathbf{r}), \mu'_s(\mathbf{r})$	3D
FDOT/FMT	Concentration en fluorophores	3D
DCS/DCT	$\langle \Delta r^2(\tau) \rangle$	2D ou 3D

### III. PROBLEMES INVERSES EN IMAGERIE OPTIQUE DIFFUSE

#### FORMULATION GENERALE

Dans le domaine du diagnostic ou de l'imagerie biomédicale, on peut formuler de manière très générale, en simplifiant à l'extrême, le problème inverse comme la recherche d'une quantification (plus ou moins locale) de marqueurs, endogènes (hémoglobine, graisse...) ou exogènes (agents de contrastes fluorescents) présents dans le volume de l'organe considéré, à partir de mesures réalisées en périphérie, à la surface. Ces marqueurs peuvent être quantifiés via leurs coefficients d'absorption et/ou de diffusion (proportionnels à la concentration), en valeur absolue ou relative. Si ces marqueurs sont fluorescents, le temps de vie et le rendement quantique sont également des paramètres qui peuvent être exploités.

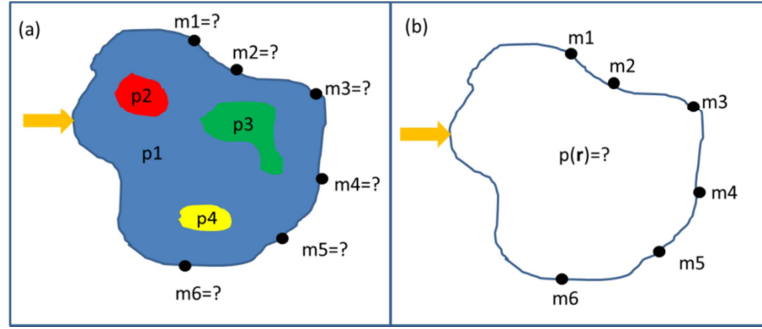


Figure 18 : Illustration problème direct (a) : connaissant la distribution volumique des paramètres  $p$ , déterminer les mesures  $m$  ; et problème inverse (b) : connaissant les mesures  $m$  déterminer la distribution volumique des paramètres  $p$ .

Formellement, cela peut s'écrire de la façon suivante :

*Problème direct* : appliquer l'opérateur « modèle » noté  $H$  à l'ensemble des paramètres  $p$  pour en déterminer l'ensemble des mesures  $m$  telles que  $m=H(p)$ . En général, l'opérateur est non-linéaire mais selon les cas on peut sous certaines approximations (discrétisation de l'espace, faibles contrastes, cf. ci-après) se ramener à une forme linéaire :  $m=Hp$ .

*Problème inverse* : rechercher l'opérateur inverse noté  $R$  qui appliqué à l'ensemble des mesures  $m$ , permet de déterminer l'ensemble des paramètres inconnus  $p$  tels que  $p=R(m)$ . Compte-tenu du modèle de propagation, il n'existe pas de forme explicite de l'opérateur  $R$ , sauf dans le cas où le problème direct est linéaire, alors  $R=H^{-1}$  :  $p=H^{-1}m$ . Dans le cas contraire, on fait appel à des algorithmes de reconstruction non-linéaires.

## DIFFERENTS MODES DE RECONSTRUCTION

Selon l'application (chémométrie, suivi dynamique, imagerie...), le problème inverse se formule différemment. Il dépend globalement du milieu (homogène/non-homogène, géométrie), des géométries d'illumination et d'acquisition, du type de signal d'excitation et du système de détection utilisés. Ci-après sont décrits les principaux problèmes inverses rencontrés en diagnostic et imagerie optiques diffus.

### DETERMINATION DES PROPRIETES OPTIQUES : CHEMOMETRIE

Partant de la connaissance des solutions analytiques de l'équation de diffusion, les paramètres auxquels on peut remonter par *ajustement de données* sont les coefficients d'absorption et de diffusion d'un milieu homogène (cf. Équation 17 et Équation 20). Si le milieu est un liquide, comme par exemple de l'intralipid® largement utilisé comme fantôme biologique, pour simuler les propriétés optiques des tissus biologiques (van Staveren et al., 1991), on peut choisir de se placer en milieu infini, avec une source et un détecteur situés loin des interfaces. C'est la configuration qui permet de satisfaire au mieux les hypothèses, car, comme on l'a vu, la prise en compte de la physique aux interfaces reste encore mal connue. Selon le type de source (continue, modulée ou pulsée), les protocoles de mesures peuvent être différents.

#### SOURCE CONTINUE

Le signal mesuré dans ces conditions est une fonction de la fluence qui a pour expression en milieu infini :  $\Phi(\mathbf{r}, \mathbf{r}_s) = \frac{q_0}{4\pi D} \frac{e^{ik_o|\mathbf{r}-\mathbf{r}_s|}}{|\mathbf{r}-\mathbf{r}_s|}$ , où  $k_o^2 = -\frac{\mu_a}{D}$ . La Figure 19 montre un exemple de figure

simulée pour diverses propriétés optiques. Globalement, la taille du spot de diffusion du signal rétrodiffusé nous renseigne sur la valeur du paramètre  $k_o$ . On comprend bien que si l'on veut obtenir des valeurs absolues dissociée de  $\mu_a$  et  $D$ , il faut tenir compte de l'amplitude du signal. C'est une méthode facile à mettre en œuvre en terme d'instrumentation mais assez sensible aux fluctuations d'intensité des sources. En général, elle est utilisée dans une géométrie de réflexion, le système d'illumination étant un laser continu, avec une détection avec une caméra CCD (Gobin et al., 1999). Les résultats sont obtenus par ajustement (méthode de Nelder-Mead simplex par exemple) des mesures en rétrodiffusion avec la solution analytique en milieu semi-infini. Pour un bon ajustement des données, l'ensemble de l'extension spatiale du signal rétrodiffusé doit être mesuré, ce qui, selon les paramètres optiques, est parfois difficile à réaliser. Par ailleurs, la mesure doit être réalisée avec une bonne dynamique compte-tenu de la forte intensité près de la source. Il a cependant été vérifié, lors d'une étude menée dans le cadre des thèses d'Aurélien Laidevant (CEA-LETI, Grenoble, technique résolue en temps) et de Julie Falconet (CREATIS, Lyon, technique continue), que cette technique permettait d'obtenir de bon résultats si les milieux étaient fortement diffusants et peu absorbants (Falconet et al., 2008). Ce type de mesure reste cependant réservé à la caractérisation de fantômes, et est difficilement envisageable *in vivo*. Du fait de sa simplicité, c'est le système qui a été mis en place à l'Institut Fresnel. Une variante a également été introduite, avec une illumination en incidence oblique, basée plus spécifiquement sur la localisation de la profondeur de la source ponctuelle (Wang and Jacques, 1995). Cette technique mesure globalement la position en profondeur de la source supposée ponctuelle à une profondeur dépendant des propriétés optiques. Comme on l'a vue, cette relation reste cependant encore quelque peu empirique.

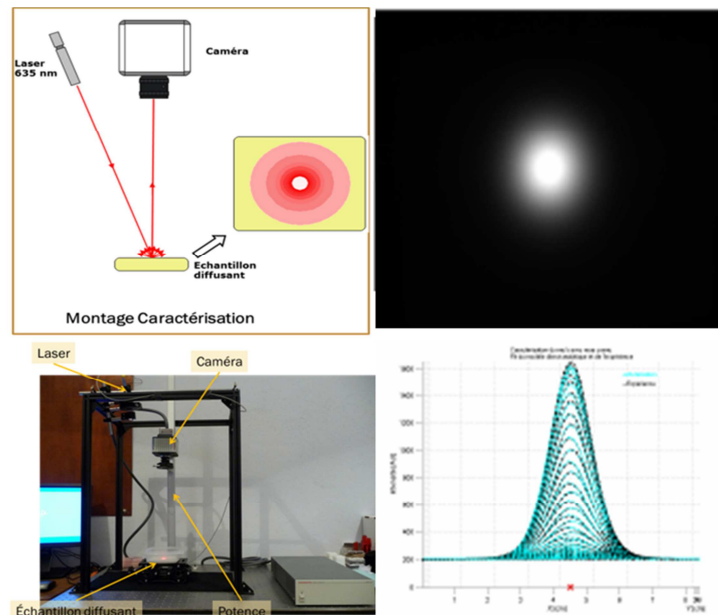


Figure 19 : Gauche : Schéma et photographie du dispositif expérimental disponible à l'Institut Fresnel ; droite : exemple de mesure et simulation.

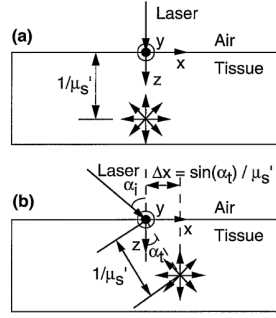


Fig. 1. Lumped isotropic point sources for a laser beam of (a) normal incidence ( $\alpha_i = 0$ ), (b) oblique incidence ( $\alpha_i > 0^\circ$ ). A coordinate system was set up in which the y axis pointed outward from the paper.

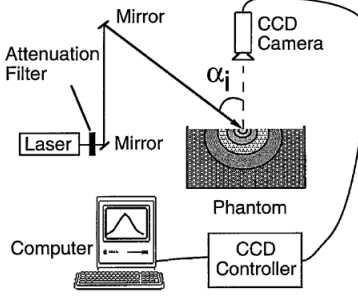


Fig. 2. Schematic of the video reflectometer.

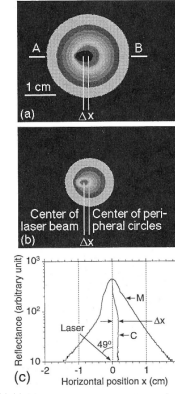


Fig. 5. (a), (b) CCD video images of a diffuse reflectance pattern from a turbid medium with the same optical properties as those in Fig. 3; (c) diffuse reflectance along the x axis. The resolution of the images was  $8.5 \times 10^{-3}$  cm/pixel; (a) is the video image without laser beam attenuation (the center of the image was saturated on the CCD camera) and (b) is the video image with a 3.3-fold attenuation by a filter to measure the saturated center portion of (a).

Figure 20 :Figures extraites de (Wang and Jacques, 1995)

## SOURCE MODULEE

Dans le cas d'une illumination ponctuelle par une source modulée à la pulsation  $\omega$ , en milieu infini, on a vu que :  $\Phi(\mathbf{r}, \mathbf{r}_s, \omega) = \frac{q_0}{4\pi D} \frac{e^{ik_o(\omega)|\mathbf{r}-\mathbf{r}_s|}}{|\mathbf{r}-\mathbf{r}_s|} = Ae^{i\theta}$ , où  $k_o^2(\omega) = -\left[\frac{\mu_a}{D} - \frac{i\omega}{cD}\right]$ . En mesurant l'amplitude et la phase de la fluence, et sachant que les parties réelle et imaginaire du nombre d'onde ont pour expression :

$$\Re\{k_o(\omega)\} = \left(\frac{c\mu_a}{2D}\right)^{1/2} \left[ \left(1 + \left[\frac{\omega}{c\mu_a}\right]^2\right)^{1/2} + 1 \right]^{1/2} \quad \text{Équation 35}$$

$$\Im\{k_o(\omega)\} = -\left(\frac{c\mu_a}{2D}\right)^{1/2} \left[ \left(1 + \left[\frac{\omega}{c\mu_a}\right]^2\right)^{1/2} - 1 \right]^{1/2} \quad \text{Équation 36}$$

on peut en déduire les paramètres  $\mu_a$  et  $D$ . Pour plus de précision sur les données, on peut choisir également de faire des mesures à diverses fréquences, d'autant que, comme le montre la simulation de la Figure 21, les différences de déphasages sont en général faibles.

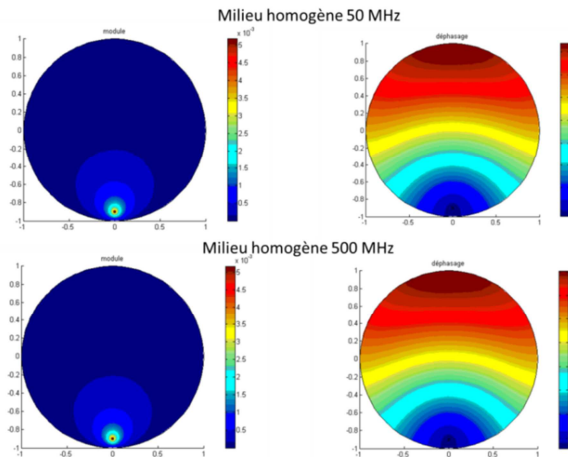


Figure 21 Exemple de simulation 2D de l'équation de diffusion (méthode des éléments finis) en régime fréquentiel ( $\mu_a=0.1\text{cm}^{-1}$  et  $\mu'_s=10\text{cm}^{-1}$ ), unité de longueur [cm], amplitude [u.a], déphasage [rad].

## SOURCE PULSEE

L'expression de la fluence en régime pulsé est la transformée de Fourier de l'expression précédente :  $\Phi(\mathbf{r}, \mathbf{r}_s, t) = \frac{q_0}{c(4\pi Dc(t-t_0))^{3/2}} \exp(-\mu_a c(t-t_0)) \exp(-\frac{|\mathbf{r}-\mathbf{r}_s|^2}{4Dc(t-t_0)})$ . Un schéma de

montage typique et un exemple de mesures sont représentés sur la Figure 22. Un ajustement de données non linéaire nous permet de remonter avec précision, compte-tenu du grand nombre de points, aux valeurs des paramètres  $\mu_a$  et  $D$ . Il est particulièrement intéressant de noter que :

- la pente de la courbe (souvent nommée TPSF pour Temporal Point Spread Function) représentée en échelle logarithmique, aux temps longs, nous informe en particulier sur la valeur du coefficient d'absorption (Figure 22, bas):

$$\lim_{t \rightarrow \infty} \frac{\partial \ln \Phi(r, r_s, t)}{\partial t} = -\mu_a c (t - t_o) \quad \text{Équation 37}$$

- La position du maximum de la courbe nous renseigne particulièrement sur le coefficient de diffusion :

$$\mu'_s = \frac{4c}{3|r-r_s|^2} t_{max} (t_{max} \mu_a c + \frac{3}{2}) \quad \text{Équation 38}$$

Ainsi, sans passer par un algorithme d'inversion très sophistiqué, on peut avoir une estimation rapide des valeurs des propriétés optiques.

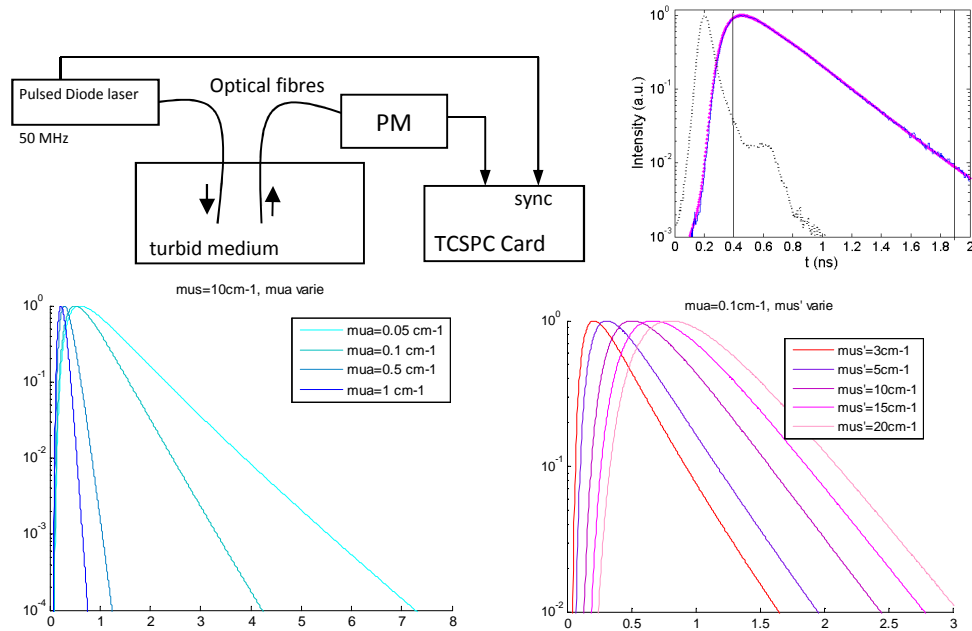


Figure 22 Figures extraites de (Laidevant et al., 2006b) (haut) et simulations en échelle logarithmique (bas) (échelle de temps en [ns]) : (gauche) en fonction de la valeur du coefficient d'absorption, à coefficient de diffusion fixe, et (droite) en fonction de la valeur du coefficient de diffusion, à coefficient d'absorption fixe.

Notons qu'il s'agit effectivement de la technique la plus précise, ce qui en fait la technique de référence en matière de caractérisation optique. Mais c'est également la plus sophistiquée et donc la plus difficile à mettre en œuvre et la plus chère (diode laser pulsée, largeur de pulse quelques ps+photomultiplicateur+carte à comptage de photons corrélée en temps TCSPC : Time Correlation Photon Counting). L'étude menée par A. Laidevant et J. Falconet montre que la technique continue peut produire des résultats tout à fait comparables. L'avantage majeur des techniques temporelles (fréquentiel+résolue en temps) est qu'elles permettent d'effectuer des mesures très locales, et donc d'obtenir des mesures *in vivo* très fiables.

L'objectif de la spectroscopie optique des tissus biologiques est de remonter à une quantification de différents constituants. Comme on l'a vu, ces tissus sont globalement constitués de sang sous forme d'hémoglobine oxygénée ( $\text{HbO}_2$ ) et désoxygénée (Hb) et d'eau ( $\text{H}_2\text{O}$ ). Sans trop d'approximations, on peut noter que le coefficient d'absorption global du tissu est une combinaison linéaire des concentrations de ces divers constituants :

$$\mu_a(\lambda) = \sum_i c_i \varepsilon_i(\lambda) = B(S\mu_{a\text{HbO}_2}(\lambda) + (1 - S)\mu_{a\text{Hb}}(\lambda)) + W\mu_{a\text{H}_2\text{O}}(\lambda) + \sum_j f_j \mu_{a_j}(\lambda) \quad \text{Équation 39}$$

où  $\varepsilon_i(\lambda)$  est le coefficient d'extinction molaire, dépendant de la longueur d'onde, et mesurable in vitro pour tout chromophore. Ainsi, pour déterminer la concentration de N constituants, il convient de procéder à au moins N mesures à N longueurs d'onde. La méthode DOS/NIRS est classiquement utilisée pour mesurer les concentrations  $[\text{HbO}_2]$  et  $[\text{Hb}]$ . L'exemple de dispositif le plus connu est l'oxymètre de pouls (Figure 23).

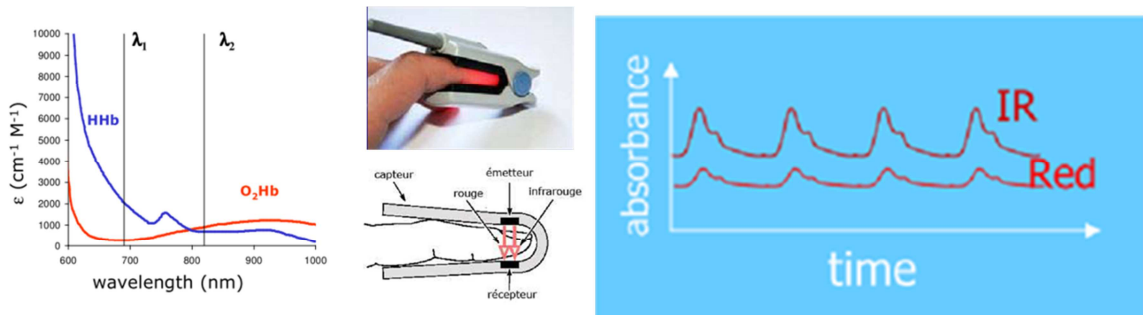


Figure 23 Spectre des coefficients d'extinction molaires de  $\text{HbO}_2$  (rouge) et Hb (bleu), photographie et schéma d'un oxymètre classiquement utilisé, et exemple de courbes de suivi longitudinal de l'absorbance mesurée à deux longueurs d'onde.

De manière concrète, la mesure de la fluence à deux longueurs d'onde nous permet, par ajustement de données non-linéaire, plus ou moins complexe, d'avoir deux équations du type Équation 39:

$$\begin{cases} \mu_a(\lambda_1) = [\text{HbO}_2]\varepsilon_{\text{HbO}_2}(\lambda_1) + [\text{Hb}]\varepsilon_{\text{Hb}}(\lambda_1) \\ \mu_a(\lambda_2) = [\text{HbO}_2]\varepsilon_{\text{HbO}_2}(\lambda_2) + [\text{Hb}]\varepsilon_{\text{Hb}}(\lambda_2) \end{cases} \Rightarrow \begin{cases} [\text{Hb}] = \frac{\mu_a(\lambda_1)\varepsilon_{\text{HbO}_2}(\lambda_2) + \mu_a(\lambda_2)\varepsilon_{\text{HbO}_2}(\lambda_1)}{\varepsilon_{\text{Hb}}(\lambda_1)\varepsilon_{\text{HbO}_2}(\lambda_2) - \varepsilon_{\text{Hb}}(\lambda_2)\varepsilon_{\text{HbO}_2}(\lambda_1)} \\ [\text{HbO}_2] = \frac{\mu_a(\lambda_1)\varepsilon_{\text{Hb}}(\lambda_2) + \mu_a(\lambda_2)\varepsilon_{\text{Hb}}(\lambda_1)}{\varepsilon_{\text{Hb}}(\lambda_1)\varepsilon_{\text{HbO}_2}(\lambda_2) - \varepsilon_{\text{Hb}}(\lambda_2)\varepsilon_{\text{HbO}_2}(\lambda_1)} \end{cases}$$

Équation 40

ceci, en négligeant l'absorption des autres constituants. Ceci permet de remonter à deux paramètres particulièrement représentatifs du métabolisme, la concentration totale en sang  $[\text{tHb}] = [\text{Hb}] + [\text{HbO}_2]$ , et le taux d'oxygénation du sang  $[\text{SO}_2] = \frac{[\text{HbO}_2]}{[\text{Hb}] + [\text{HbO}_2]}$ , dont on peut suivre l'évolution en fonction du temps. On peut complexifier la procédure pour accéder aux concentrations d'autres constituants (sucres, lipides par exemple) en effectuant des mesures à d'autres longueurs d'onde. L'idée générale de ces techniques NIRS/DOS est de suivre l'évolution de la consommation de certains métabolites. Elles sont généralement utilisées en géométrie de réflexion avec un réseau de fibres optiques fixées à la surface de l'organe (cerveau, muscle...).

Le choix des longueurs d'onde pour obtenir ces quantifications est critique et dépend évidemment du constituant à quantifier. L'approche multi-spectrale ou hyper-spectrale est maintenant largement utilisée, en mode continu de sorte qu'il n'est plus nécessaire d'effectuer des mesures fréquentielles ou temporelles : l'idée est d'introduire comme *a priori* le spectre

connu sur une large bande de divers constituants (Corlu et al., 2003), et notamment le spectre de diffusion  $\mu'_s(\lambda) = a\lambda^{-b}$ .

Cette technique a beaucoup de succès dans le domaine des neurosciences car elle permet ainsi d'accéder à un suivi longitudinal, dynamique, et quantitatif du métabolisme d'un organe et d'envisager l'accès à une information de type fonctionnel : suivre la réponse métabolique d'un organe en réponse à un stimulus. C'est une idée émise par Jöbsis (Jobsis, 1977) dès les années 70. L'idée ici est que la consommation d'oxygène est intrinsèquement liée à l'activité neuronale (Figure 24) : l'accroissement des besoins métaboliques des neurones sollicités se traduit par une consommation accrue en oxygène et par conséquent, d'un accroissement du volume et du flux sanguin, d'une variation locale de l'oxygénation du sang. La quantification de ces variations est la base des méthodes d'imagerie hémodynamiques fonctionnelles telles que la TEP, la fMIR et également l'imagerie optique intrinsèque (IOI).

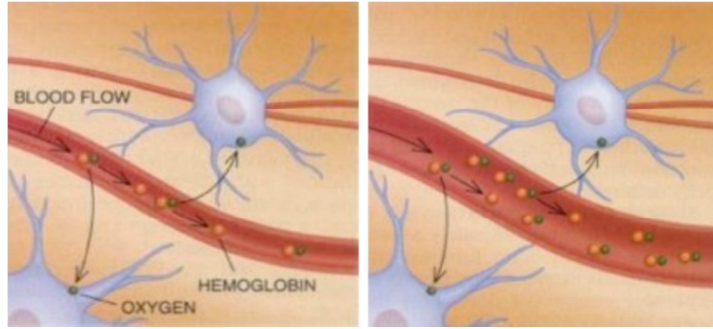


Figure 24 couplage neuro-vasculaire : l'activation neuronale s'accompagne d'une consommation accrue en oxygène.

Les variations quantitatives d'absorption sont très faibles de sorte que l'on cherche à mesurer une *perturbation* en termes de variation de coefficient d'absorption  $\Delta\mu_a$  et de diffusion réduit  $\Delta\mu'_s$  par rapport à ces paramètres mesurés au repos  $\mu_a^0$  et  $\mu'_s^0$ . Considérons la quantité  $\Delta OD(\lambda, \rho = |\mathbf{r}_d - \mathbf{r}_s|, t) = -\ln(\Phi(\lambda, \rho, t)/\Phi(\lambda, \rho, t=0))$  représentant la variation de densité optique entre une mesure de fluence réalisée à  $t$  et une mesure réalisée à  $t=0$ . On peut montrer que, en effectuant un développement en série de Taylor tronquée à l'ordre 1 :

$$\Delta OD(\lambda, \rho, t) \sim \sum_i \varepsilon_i(\lambda) \Delta c_i(t) d_a(\lambda, \rho) + \Delta\mu'_s(\lambda, t) d_s(\lambda, \rho) \sim \sum_i \varepsilon_i(\lambda) \Delta c_i(t) DPF(\lambda) \rho \quad \text{Équation 41}$$

où  $d_a(\lambda, \rho) = \partial OD(\lambda, \rho, t=0)/\partial \mu_a$  et  $d_s(\lambda, \rho) = \partial OD(\lambda, \rho, t=0)/\partial \mu'_s$  sont les *libres parcours moyens différentiels* d'absorption et de diffusion. Ces fonctions sont calculées en général dans le cadre de l'approximation de la diffusion pour des milieux semi-infinis. Une approximation supplémentaire est largement faite en matière de suivi des fonctions hémodynamiques : on suppose que le coefficient de diffusion reste inchangé, soit  $\Delta\mu'_s \approx 0$ , ce qui conduit à une expression simplifiée de  $d_a(\lambda, \rho) \approx DPF(\lambda) \rho$ , faisant apparaître la quantité  $DPF(\lambda)$  connue sous le nom de facteur de libre parcours moyen différentiel (Differential Pathlength Factor). L'Équation 41 est connue sous le nom de loi de Beer-Lambert modifiée : on retrouve en effet la loi de Beer-Lambert écrite en termes de densité optique avec toutefois la longueur du trajet des photons modifiée afin de tenir compte de la diffusion. Il existe ainsi plusieurs méthodes basées sur des mesures plus ou moins explicites de la quantité  $DPF(\lambda)$ . Notons que le fait de négliger les variations du coefficient de diffusion est spécifique aux techniques NIRS/DOS. Une autre technique, EROS pour Event-Related Optical Signal (Gratton and Fabiani, 2001) s'intéresse au



contraire aux variations très rapides des coefficients de diffusion, signatures intrinsèques de l'activité des cellules neuronales.

## DOT

L'approche tomographique a pour objectif de s'affranchir des hypothèses d'homogénéité et de géométrie semi-infinie de la DOS/NIRS. Elle est particulièrement intéressante pour la localisation précise de tumeurs. Le but est, comme en tomographie par rayons X, de reconstruire la distribution tri-dimensionnelle des propriétés optiques/physiologiques à l'intérieur de l'organe considéré, à partir de mesures de la luminance réalisée en périphérie. La difficulté ici réside dans le fait que les mesures sont sensibles à un large volume du fait de la diffusion, contrairement aux rayons X. Néanmoins, dans de nombreux cas, on peut se ramener à une version linéarisée du problème et des méthodes, héritées pour la plupart des autres techniques d'imagerie conventionnelles, ont été appliquées : méthodes de rétroprojection, tomographie de diffraction dans l'espace de Fourier, approches perturbatives, développements en série de Taylor, techniques de gradients itératives, méthodes de systèmes elliptiques, schémas de Newton tronqués, algorithmes d'inversion multigrilles et méthodes bayésiennes. Des revues récentes font état des différentes avancées dans le domaine de la DOT, avec deux problèmes techniques majeurs qui sont la prise en compte de régions vides (par exemple pour l'imagerie du cerveau, le liquide encéphalo-rachidien, non diffusant), et l'introduction d'*a priori* morphologiques, faisant appel à des modèles hybrides.

Ci-après sont décrites les démarches les plus utilisées en DOT, en modes fréquentiel (le mode continu étant considéré comme un cas particulier du fréquentiel) et temporel. Rappelons cependant que la grandeur mesurable est la luminance qui, dans l'approximation de la diffusion, présente un terme de fluence et un terme de flux (Équation 22). La quasi-totalité des schémas de reconstruction font cependant l'hypothèse  $signal(\mathbf{r}, t) \propto \Phi(\mathbf{r}, t)$ . (Nicolas Ducros et al., 2009) montre explicitement l'erreur commise dans cette hypothèse sur des reconstructions réalisées en FDOT (la conclusion serait la même en DOT) à partir de mesures résolues en temps (Figure 25). Il montre néanmoins que l'approximation classiquement utilisée basée sur l'utilisation de la fluence seule est un bien meilleur modèle pour la reconstruction que celle basée sur l'utilisation du terme de flux seul. Il propose de plus une expression explicite, valable lorsque la position de la source est loin des interfaces,  $signal(\mathbf{r}, t) = C\Phi(\mathbf{r}, t)$ , où  $C$  dépend des propriétés optiques et de la géométrie de détection (surface, angle solide).

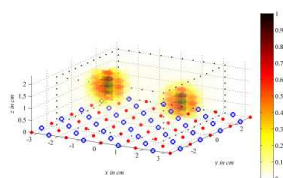


Fig. 1. Synthetic phantom. The red dots indicate the source positions and the blue circles the detector positions. Optical properties:  $\mu_a = 0.02 \text{ cm}^{-1}$ ,  $\mu_s' = 2 \text{ cm}^{-1}$ ,  $n = 1.4$ .

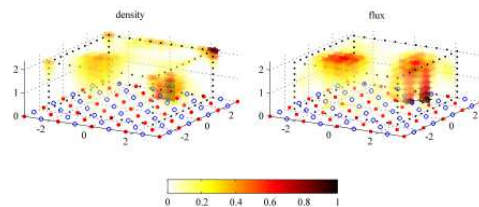


Fig. 3. Reconstructed concentration using the density model (left) and the flux model (right).

Figure 25 Figures extraites de (Nicolas Ducros et al., 2009) : à gauche fantôme synthétique, à droite, reconstructions à partir de la fluence ou du flux.

## RECONSTRUCTION EN CW/FREQUENTIEL

### Linéarisation : approche perturbative



On considère que les variations locales de propriétés optiques sont faibles devant les propriétés optiques du fond:

$$\begin{cases} \mu_a(\mathbf{r}) = \mu_a^0 + \delta\mu_a(\mathbf{r}) \\ D(\mathbf{r}) = D^0 + \delta D(\mathbf{r}) \end{cases} \quad \text{Équation 42}$$

Les valeurs de  $\mu_a^0$  et  $D^0$  sont supposées connues dans la procédure d'inversion. Elles sont soit mesurées spécifiquement, tomographie différentielle, soit issues de la littérature. Deux approches sont généralement suivies :

- i) l'approximation de Born selon laquelle  $\Phi(\mathbf{r}, \omega) = \Phi^0(\mathbf{r}, \omega) + \delta\Phi(\mathbf{r}, \omega)$  ;
- ii) l'approximation de Rytov selon laquelle  $\Phi(\mathbf{r}, \omega) = \Phi^0(\mathbf{r}, \omega) \exp(\delta\Phi(\mathbf{r}, \omega))$ .

où  $\delta\Phi(\mathbf{r}, \omega)$  est la perturbation sur le signal mesuré liée à la présence de la perturbation sur les paramètres optiques et  $\Phi^0(\mathbf{r}, \omega)$  est le signal non perturbé (milieu homogène).

Dans le cadre de l'approximation de Born, la fluence est développée en série de Taylor tronquée à l'ordre 1:  $\Phi(\mathbf{r}, \omega) = \Phi^0(\mathbf{r}, \omega) + \frac{\partial \Phi^0(\mathbf{r}, \omega)}{\partial \mu_a} \delta\mu_a(\mathbf{r}) + \frac{\partial \Phi^0(\mathbf{r}, \omega)}{\partial D} \delta D(\mathbf{r})$ , ce qui permet de ramener le problème à une forme linéaire matricielle, en discrétisant le milieu en N voxels centrés aux points  $\mathbf{r}_j$ , pour la mesure n°i :

$$\delta\Phi_i = [J_{a,ij} \ J_{D,ij}] \begin{bmatrix} \delta\mu_a(\mathbf{r}_j) \\ \delta D(\mathbf{r}_j) \end{bmatrix}, j \in [1, N] \quad \text{Équation 43}$$

où  $[J] = [J_{a,ij} \ J_{D,ij}] = \left[ \frac{\partial \Phi^0(\mathbf{r}, \omega)}{\partial \mu_a} \ \frac{\partial \Phi^0(\mathbf{r}, \omega)}{\partial D} \right]$  est la matrice Jacobienne, encore nommée matrice poids ou de sensibilité.

En introduisant les formes perturbées de la fluence et des paramètres optiques dans l'équation de diffusion (Équation 14):

$$(\Delta + k_0^2(\omega)) \delta\Phi(\mathbf{r}, \omega) = \frac{\delta\mu_a(\mathbf{r})}{D^0} \Phi(\mathbf{r}, \omega) - \frac{\delta D(\mathbf{r})}{cD^0} \Delta \Phi(\mathbf{r}, \omega) - \nabla \left( \frac{\delta D(\mathbf{r})}{cD^0} \right) \cdot \nabla \Phi(\mathbf{r}, \omega) \quad \text{Équation 44}$$

où  $k_0^2(\omega) = -\left[ \frac{\mu_a^0}{D^0} - \frac{i\omega}{cD^0} \right]$ . On montre que, compte-tenu de la connaissance de la fonction de Green, la contribution d'une source ponctuelle située en  $\mathbf{r}_s$  à un détecteur situé en  $\mathbf{r}_d$  peut s'exprimer comme :

$$\delta\Phi(\mathbf{r}_s, \mathbf{r}_d, \omega) = \int \left( -\frac{\delta\mu_a(\mathbf{r})}{D^0} \right) G_0(\mathbf{r}_d, \mathbf{r}, \omega) \Phi(\mathbf{r}, \mathbf{r}_s, \omega) d^3r + \int \left( \frac{\delta D(\mathbf{r})}{D^0} \right) \nabla G_0(\mathbf{r}_d, \mathbf{r}, \omega) \cdot \nabla \Phi(\mathbf{r}, \mathbf{r}_s, \omega) d^3r.$$

Équation 45

Telle que, cette formulation est non-linéaire puisque  $\Phi(\mathbf{r}, \mathbf{r}_s, \omega)$  dépend de  $\delta\mu_a(\mathbf{r})$  et de  $\delta D(\mathbf{r})$ . Si l'on suppose  $\delta\Phi(\mathbf{r}, \omega) \ll \Phi^0(\mathbf{r}, \omega)$ , alors, on retrouve un problème linéaire et en discrétisant le volume, on retrouve :

$$\delta\Phi(\mathbf{r}_s, \mathbf{r}_d, \omega) = \sum_{j=1}^N J_{a,j} \delta\mu_a(\mathbf{r}_j) + J_{D,j} \delta D(\mathbf{r}_j) \quad \text{Équation 46}$$

avec

$$\begin{aligned} J_{a,j} &= \left( -\frac{\Delta V}{D^0} \right) G_0(\mathbf{r}_d, \mathbf{r}_j, \omega) \Phi^0(\mathbf{r}_j, \mathbf{r}_s, \omega) \\ \text{et } J_{D,j} &= \left( \frac{\Delta V}{D^0} \right) \nabla G_0(\mathbf{r}_d, \mathbf{r}_j, \omega) \cdot \nabla \Phi^0(\mathbf{r}_j, \mathbf{r}_s, \omega) \end{aligned} \quad \text{Équation 47}$$

On retrouve ici exprimée analytiquement la matrice jacobienne de l'Équation 43.

Dans le cadre de l'approximation de Rytov, pour laquelle  $\delta\Phi(\mathbf{r}_s, \mathbf{r}_d, \omega) = \ln[\Phi(\mathbf{r}_s, \mathbf{r}_d, \omega)/\Phi^0(\mathbf{r}_s, \mathbf{r}_d, \omega)]$ , les matrices Jacobiennes correspondantes s'écrivent:

$$J_{a,j} = \left(-\frac{\Delta V}{D^0}\right) G_0(\mathbf{r}_d, \mathbf{r}_j, \omega) \frac{\Phi^0(\mathbf{r}_j, \mathbf{r}_s, \omega)}{\Phi^0(\mathbf{r}_d, \mathbf{r}_s, \omega)} \text{ et } J_{D,j} = \left(\frac{\Delta V}{D^0}\right) \nabla G_0(\mathbf{r}_d, \mathbf{r}_j, \omega) \cdot \frac{\nabla \Phi^0(\mathbf{r}_j, \mathbf{r}_s, \omega)}{\Phi^0(\mathbf{r}_d, \mathbf{r}_s, \omega)} \quad \text{Équation 48}$$

Cela permet de travailler ainsi avec des matrices qui sont intrinsèquement normalisées à une mesure de référence en milieu homogène.

*Approche adjointe* : Cette étape de construction de matrices jacobiennes est généralement l'étape la plus longue. Notons qu'elle fait intervenir la résolution de deux équations de diffusion. L'une est l'équation directe pour le calcul de  $\Phi^0(\mathbf{r}_j, \mathbf{r}_s, \omega)$ , soit la contribution de la source placée en  $\mathbf{r}_s$  à chacun des voxels  $\mathbf{r}_j$ , l'autre est le calcul de la fonction de Green  $G_0(\mathbf{r}_d, \mathbf{r}_j, \omega)$ . Cette dernière traduit la contribution de sources ponctuelles placées en chacun des voxels  $\mathbf{r}_j$ . On montre que le calcul de celle-ci peut passer par la résolution du problème de diffusion adjoint pour la variable adjointe  $\widetilde{G}_0(\mathbf{r}_j, \mathbf{r}_d, \omega) = G_0^*(\mathbf{r}_d, \mathbf{r}_j, \omega)$ , traduisant la contribution d'une source ponctuelle placée au niveau du détecteur  $\mathbf{r}_d$  en chacun des voxels  $\mathbf{r}_j$  (Figure 26). On peut invoquer physiquement ici le principe de retour inverse de la lumière pour le calcul de  $G_0(\mathbf{r}_d, \mathbf{r}_j, \omega)$ .

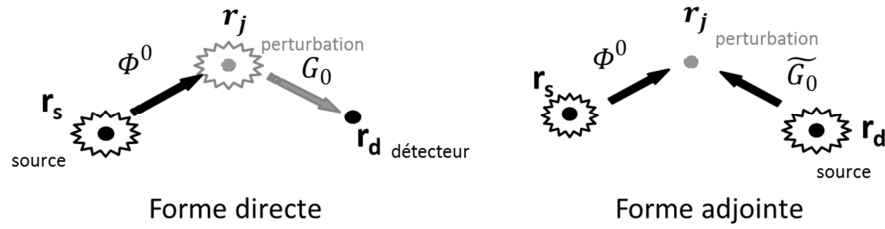


Figure 26 Schéma de calcul de la jacobienne selon la formulation directe ou adjointe.

Ainsi formulé, le problème inverse consiste à calculer l'inverse de la matrice jacobienne. En général, celle-ci est rectangulaire (nombre d'inconnues  $2N > \text{nombre de mesures } M$ ), de dimension  $2N \times M$ , l'Équation 43 est multipliée par la transposée de  $[J]$  afin de calculer l'inverse généralisée.  $[J]^T [J]$  est en générale singulière, ou quasi, et mal conditionnée donc très sensible au bruit, ce qui la rend difficile à inverser. On ajoute en général, un terme de régularisation pour limiter la sensibilité au bruit et les écarts au modèle, de sorte que l'équation matricielle à inverser devient :

$$[J]^T [\delta\Phi] = \{[J]^T [J] + \lambda [C]^T [C]\} \begin{bmatrix} \delta\mu_a(\mathbf{r}) \\ \delta D(\mathbf{r}) \end{bmatrix} \quad \text{Équation 49}$$

où  $\lambda$  est un paramètre de régularisation destiné à moduler le poids de l'opérateur de régularisation  $[C]$ .

Pour l'étape d'inversion de cette matrice, on fait appel à des méthodes éprouvées dans d'autres domaines : décomposition en valeurs singulières (SVD), méthodes de reconstruction algébriques (ART ou SIRT) ...

Malgré ses limitations, cette méthode d'inversion linéaire est largement retenue du fait de sa simplicité d'implémentation et des temps de calculs limités.

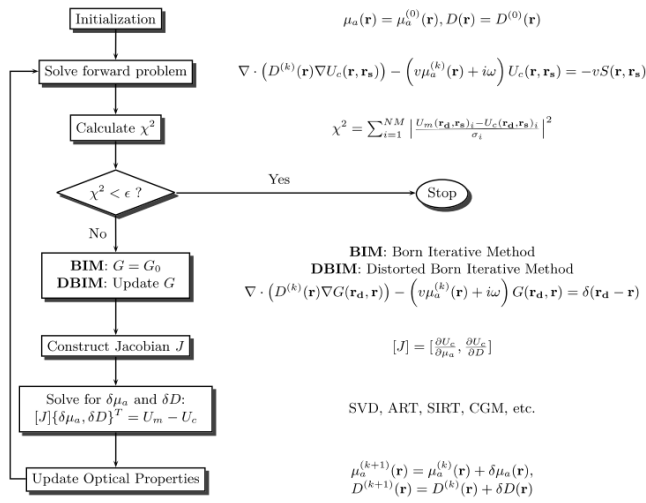
### Approche non-linéaire

Dans le cas où les variations des propriétés optiques sont trop fortes par rapport au fond, le problème reste non-linéaire. Le problème se résout alors de manière itérative par minimisation d'une fonction d'erreur quadratique (ou fonction d'objectif, *objective function* en Anglais) entre la mesure et le modèle :

$$\chi^2 = \frac{1}{2} \sum_{i=1}^M \left| \frac{\Phi_{i,mesuré} - \Phi_{i,calculé}}{\sigma_i} \right|^2 < \varepsilon \quad \text{Équation 50}$$

Deux approches sont alors possibles :

- i) L'une reste basée sur le calcul explicite du Jacobien. L'approche linéaire représente cependant la première étape de reconstruction pour déterminer une distribution de paramètres initiale (Figure 27). Les méthodes de type Born itératif (BIM), Born itératif distordu (DBIM) sont utilisées.



**Figure 10.** Flow chart of Born and distorted Born iterative methods. A linear inverse problem of the form  $J\delta x = y$  is solved for each iteration. Both the fluence rate and Green's function are updated in the distorted born method, but only the fluence rate is updated in the Born iterative method (see text for details). The iterations continue until  $\chi^2$  has reached the desired tolerance.

Figure 27 Figure extraite de (T Durduran et al., 2010).

- ii) L'autre se base sur la minimisation du gradient de la fonction d'erreur

$$\left( \frac{\partial \chi^2}{\partial \mu_a}, \frac{\partial \chi^2}{\partial D} \right) : \quad \frac{\partial \chi^2}{\partial p} = \sum_{i=1}^M \frac{\Phi_{i,mesuré} - \Phi_{i,calculé}}{\sigma_i^2} \left( -\frac{\partial \Phi_{i,calculé}}{\partial p} \right) \quad \text{Équation 51}$$

C'est une méthode très intéressante car économe en temps de calcul et en mémoire, dans la mesure où il n'y a pas de calcul ni de stockage de matrices jacobiniennes.

## RECONSTRUCTION DANS LE DOMAINE TEMPOREL

Dans le domaine temporel, le nombre de mesures exploitables est multiplié par le nombre de pas de temps. Le volume de données est donc considérable et sans doute redondant. On a vu qu'en extrayant simplement deux paramètres (Équation 37 et Équation 38) de la TPSF, il était possible de remonter aux propriétés optiques en milieu homogène. L'idée est donc de compresser le contenu informationnel et d'exploiter des signatures spécifiques des TPSFs mesurées, notées ici  $f(t)$ . Plusieurs approches ont été proposées, listées ci-après avec les références associées. Toutes se basent sur l'application de filtres temporels appliqués sur les

courbes, de manière plus ou moins globale, pour en extraire une valeur caractéristique de la courbe.

- Transformée de Fourier :

$$\tilde{f}(\omega) = \int f(t)e^{-i\omega t} dt, \omega \in \mathbb{R} \quad \text{Équation 52}$$

Cela revient globalement à se placer dans le domaine fréquentiel, à ceci près que l'on peut analyser le contenu fréquentiel du signal, et ainsi travailler à toute fréquence souhaitée.

- Transformée de Mellin : elle représente le calcul des moments d'ordre  $n$  :

$$m_n[f] = \int f(t)t^n dt, n \in \mathbb{N} \quad \text{Équation 53}$$

Cette transformation est facile à implémenter et intuitive : le moment d'ordre 0 est l'intégrale de la courbe et représente donc l'énergie totale  $m_0[f] = \int f(t)dt$ , le moment d'ordre 1 normé est homogène à un temps et représente le temps moyen d'arrivée des photons  $m_1[f] = \langle t \rangle = \frac{1}{m_0[f]} \int f(t)t dt$  (Figure 28). Le moment d'ordre 2 combiné avec le moment d'ordre 1 nous renseignera sur la largeur de cette courbe...

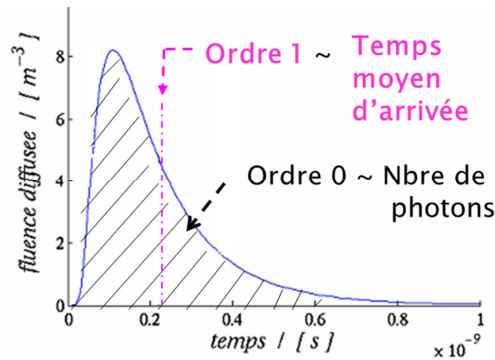


Figure 28 Illustration de la transformée de Mellin.

A partir de ces projections, on peut construire un schéma de reconstruction linéaire que ce soient pour les coefficients  $\mu_a$  et  $\mu'_s$  (Arridge et al., 1992) ou pour la distribution en marqueurs fluorescents (Da Silva et al., 2010; N. Ducros et al., 2009b, 2009c; Laidevant et al., 2006b; Lam et al., 2005). (N. Ducros et al., 2009c) montre néanmoins que ces moments sont fortement corrélés, d'autant plus que l'ordre augmente.

- Transformées de Laplace (Figure 29):

$$\mathcal{L}_s[f] = \int f(t)e^{-st} dt, s \in \mathbb{R} \quad \text{Équation 54}$$

pour laquelle on peut également écrire un schéma d'inversion linéaire (Gao et al., 2006). La pondération par la fonction exponentielle permet notamment de sélectionner les premiers photons, ou plutôt de leur donner plus de poids (Wu et al., 1997).

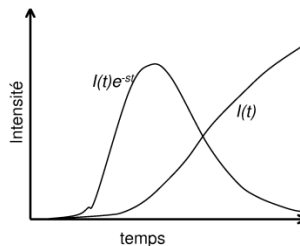


Figure 29 Illustration de la transformée de Laplace.

- Transformée de Mellin-Laplace (Figure 30):

$$m_n \mathcal{L}_s[f] = \int f(t) t^n e^{-st} dt, n \in \mathbb{N}, s \in \mathbb{R}$$

Équation 55

C'est une transformation mixte, particulièrement intéressante car elle permet de réaliser un fenêtrage temporel variable et contrôlable selon les paramètres  $n$  et  $s$ . Elle a été très récemment incorporée dans un schéma de reconstruction : (Hervé et al., 2012) ont montré que les propriétés mathématiques de la transformée de Mellin-Laplace permettait également d'écrire un schéma de reconstruction linéaire.

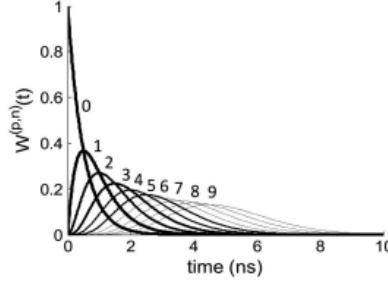


Fig. 1.  $W^{(p,n)}$  sequence for  $p = 2 \text{ ns}^{-1}$  and for  $n = 0$  to 9 (indicated at the maximum of each curve).

Figure 30 Extrait de (Hervé et al., 2012).

- Fenêtrage temporel ou « Time gating » (Figure 31):

$$\Pi_{t_2-t_1}[f] = \int_{t_1}^{t_2} f(t) dt, t_1, t_2 \in \mathbb{R}$$

Équation 56

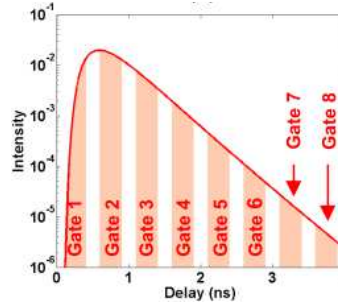


Figure 31 Extrait de (Selb et al., 2007).

Plus local que la transformée de Mellin-Laplace, ce filtrage permet d'exploiter séparément l'information contenue dans un nombre limité de fenêtres temporelles : aux temps courts, on examinera le signal des photons qui ont suivi les plus courts trajets, tandis qu'aux temps longs, on détectera les photons qui ont voyagé loin dans le volume. Ces techniques de « gating » sont particulièrement intéressantes lorsque l'organe à examiner n'est pas accessible sous tous les angles comme le cerveau ou la prostate. Le schéma de reconstruction passe par le calcul des fonctions de Green dans l'espace de Fourier, pour un grand nombre de fréquences. Certaines études montrent de surcroît que ces transformations locales sont plus performantes que les approches globales (Riley et al., 2007), sans doute du fait de la corrélation entre les différentes mesures obtenue avec les transformations globales.

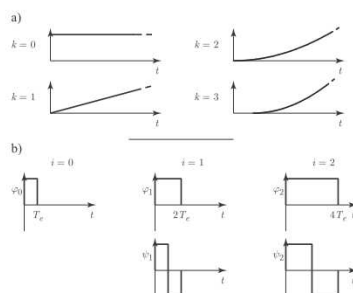
- Transformation en ondelettes :

$$W[f] = \int f(t) w(t) dt,$$

Équation 57

où les fonctions de bases  $w(t)$  sont des ondelettes, introduites et largement développées par Morlet, Meyer et Mallat. Ces fonctions de bases sont divisées en fonction d'échelle  $\varphi(t)$  qui permet d'obtenir une approximation lissée et la fonction d'ondelette  $\psi(t)$  qui véhicule les

détails. Les avantages de ce type de fonctions sont ses propriétés mathématiques et l'aspect multirésolution. La famille d'ondelettes la plus utilisée car très facile à mettre en œuvre sont les ondelettes de Haar (Figure 32). D'autres types d'ondelettes ont également été testées, telles que les B-Spline (N. Ducros et al., 2009a). Bien que plus sophistiquées, les résultats sont toutefois très proches et tout aussi satisfaisants que ceux obtenus avec les simples ondelettes de Haar. Le choix de l'ondelette reste donc un point à éclaircir : elle doit permettre d'analyser sélectivement la mesure pour en extraire au mieux le contenu informationnel.



**Figure VI.3:** Basis Functions (BFs). Any data type can be conceived as the projection of the measurements on such functions. a) BFs corresponding to the moments; b) BFs corresponding to the Haar wavelet decomposition. Moments are non-localized data features, whereas the wavelet features are localized one.

Figure 32 Extrait de (Ducros et al., 2010) .

## FDOT/FMT

Formellement, la FDOT/FMT et la DOT sont en tous points comparables à ceci près que l'absorption locale du signal d'excitation (longueur d'onde  $\lambda_x$ ) est suivie d'une réémission avec un temps de retard, temps de vie caractéristique du fluorophore  $\tau \sim 1ns$  (phénomène beaucoup plus lent que l'absorption  $\sim 1fs$ ), une atténuation liée au rendement quantique  $\eta$  des molécules et un changement de longueur d'onde ( $\lambda_m > \lambda_x$ ). La formulation du problème direct est détaillée ici afin de faire ressortir les similarités.

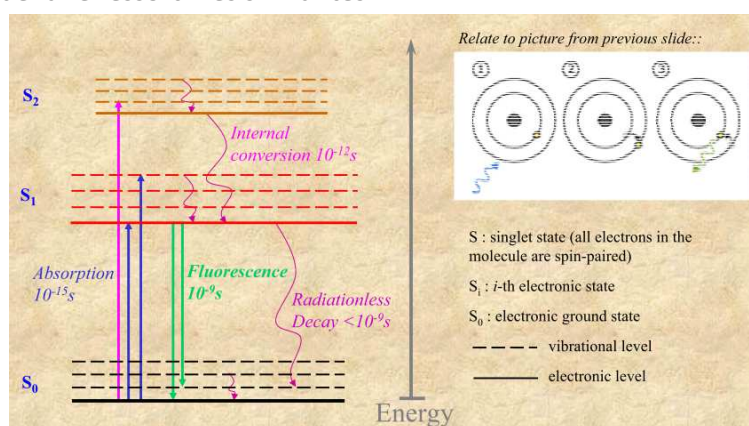


Figure 33 Temps caractéristiques des processus de désexcitation.

Pour simplifier, supposons un milieu homogène. On verra par la suite comment prendre en compte les inhomogénéités du système. On se place également pour la description en régime fréquentiel. En mode fluorescent, on est en présence de deux phénomènes que l'on peut découpler (Figure 34):

- l'excitation des fluorochromes (placé en un point  $\mathbf{r}$  du milieu) à la longueur d'onde d'excitation  $\lambda_x$  par une source ponctuelle placée en  $\mathbf{r}_s$ : l'onde se propageant dans le

système va traverser un milieu dont les propriétés optiques  $(D_x, k_x/k_x^2(\omega) = -[\frac{\mu_{ax}}{D_x} - \frac{i\omega}{cD_x}])$  ;

- l'émission de lumière par les fluorochromes à la longueur d'onde d'émission  $\lambda_m$ , avec les propriétés optiques  $(D_m, k_m/k_m^2(\omega) = -[\frac{\mu_{am}}{D_m} - \frac{i\omega}{cD_m}])$ . C'est ce signal qui sera détecté en  $\mathbf{r}_d$  via un filtre chromatique.

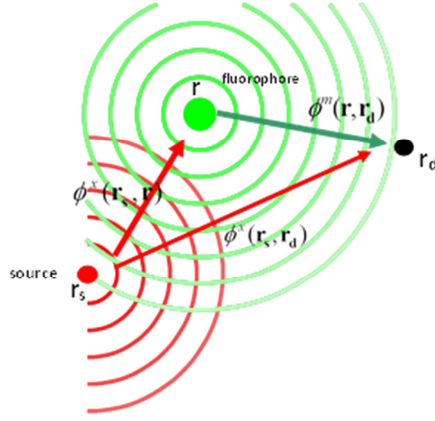


Figure 34 Schéma représentatif du phénomène et notations.

Au niveau du détecteur  $\mathbf{r}_d$ , le signal total détecté  $\Phi^m(\mathbf{r}_d)$  provient de l'ensemble des fluorochromes du volume considéré:

$$\Phi^m(\mathbf{r}_d) = \int \Phi^m(\mathbf{r}, \mathbf{r}_d) d\mathbf{r} \quad \text{Équation 58}$$

Si l'on considère que chaque fluorochrome agit comme une source secondaire isotrope d'intensité  $S_f$ , on peut réécrire :

$$\Phi^m(\mathbf{r}_d) = \int S_f(\mathbf{r}) \frac{G(k_m, \mathbf{r}, \mathbf{r}_d)}{D_m(\mathbf{r})} d\mathbf{r} \quad \text{Équation 59}$$

Or la quantité de lumière  $S_f$  émise à  $\lambda_m$ , en un point  $\mathbf{r}$ , dépend:

- de la quantité de lumière d'excitation  $\phi^x$  qui a pu être absorbée au point  $\mathbf{r}$ , soit  $\delta\mu_{af}(\mathbf{r})\phi^x(\mathbf{r})$  où  $\delta\mu_{af}(\mathbf{r})$ , l'absorption locale due aux fluorochromes, est directement proportionnelle à la concentration locale en fluorochromes ;
- du rendement quantique  $\eta$ , qui peut également être une quantité locale puisqu'elle dépend du milieu environnant ;
- de l'amortissement lié au temps de vie  $\tau$  des fluorochromes  $(1 - i\omega\tau)^{-1}$ , qui également peut dépendre des propriétés du milieu environnant .

$$S_f(\mathbf{r}) = \frac{\eta(\mathbf{r})\delta\mu_{af}(\mathbf{r})}{1 - i\omega\tau(\mathbf{r})} \phi^x(\mathbf{r}) \quad \text{Équation 60}$$

Avec, comme on l'a vu, en supposant une illumination ponctuelle initiale d'intensité  $Q_0(\mathbf{r}_s)$ :

$$\phi^x(\mathbf{r}, \mathbf{r}_s) = \frac{Q_0(\mathbf{r}_s)}{4\pi} \frac{G(k_x, \mathbf{r}_s, \mathbf{r})}{D_x(\mathbf{r})} \quad \text{Équation 61}$$

Par conséquent, le signal détecté en  $\mathbf{r}_d$  s'écrit :

$$\Phi^m(\mathbf{r}_s, \mathbf{r}_d) = \frac{Q_0(\mathbf{r}_s)}{4\pi} \int \frac{G(k_m, \mathbf{r}, \mathbf{r}_d)}{D_m(\mathbf{r})} \frac{\eta(\mathbf{r})\delta\mu_{af}(\mathbf{r})}{1 - i\omega\tau(\mathbf{r})} \frac{G(k_x, \mathbf{r}_s, \mathbf{r})}{D_x(\mathbf{r})} d\mathbf{r} \quad \text{Équation 62}$$

Compte tenu du fait que l'absorption locale  $\delta\mu_{af}(\mathbf{r})$  est directement proportionnelle à la concentration  $C(\mathbf{r})$  locale en fluorochromes (le coefficient de proportionnalité est la section efficace d'absorption), cette relation peut être inverser en discrétisant le volume et en linéarisant l'expression ci-dessus, en milieu infini :

$$\Phi^m(\mathbf{r}_s, \mathbf{r}_d) = A(\mathbf{r}_s) \sum_j J_{F,j} C(\mathbf{r}_j) \quad \text{Équation 63}$$

Avec

$$J_{F,j} = \frac{G(k_m, r_j, r_d)}{D_m(r)} \frac{G(k_x, r_s, r_j)}{D_x(r)} \Delta v_j \quad \text{Équation 64}$$

On obtient donc une relation linéaire, en tout point comparable à la relation de l'Équation 46, reliant effectivement notre mesure à l'inconnue à déterminer, mais ceci à une constante près  $A(\mathbf{r}_s)$ , dépendant à la fois des caractéristiques du système et des propriétés des molécules fluorescentes. Ceci suppose donc que l'on soit capable de déterminer expérimentalement le facteur  $A(\mathbf{r}_s)$ . Tous les algorithmes de reconstruction développés pour la DOT peuvent être appliqués à la FDOT.

*Approximation de Born normalisée :*

(Ntziachristos and Weissleder, 2001) proposent de normaliser le signal de fluorescence par le signal d'excitation mesuré dans les mêmes conditions géométriques. En considérant la quantité normalisée  $\Phi_{norm}^m(\mathbf{r}_s, \mathbf{r}_d) = \Phi^m(\mathbf{r}_s, \mathbf{r}_d) / \Phi^x(\mathbf{r}_s, \mathbf{r}_d)$ , on peut effectivement s'affranchir d'un certain nombre de paramètres liés au système de mesures, mais pas de ceux qui sont liés aux fluorochromes. L'approche est également proposée pour s'affranchir de mesures spécifiques des propriétés optiques aux deux longueurs d'onde et pour atténuer les effets de l'inhomogénéité de l'organe examiné. Dans la mesure où les photons d'excitation et les photons d'émission ne suivent pas les mêmes trajets optiques, cette approche n'est valable que pour le cas où les longueurs d'onde  $\lambda_m$  et  $\lambda_x$  sont suffisamment proches pour faire l'approximation  $D_m \sim D_x$  et  $k_m \sim k_x$ .

En toute rigueur, pour obtenir une valeur absolue de la concentration en molécules fluorescentes, il faudrait au préalable :

- Déterminer les propriétés optiques (les nombres d'onde  $k_x$  et  $k_m$ ) du système à chacune des longueurs d'onde, soit deux tomographies spécifiques aux deux longueurs d'onde, ce qui est rarement fait en pratique.
- Déterminer le facteur de proportionnalité pour donner une unité à  $C(\mathbf{r})$ . En général, une procédure de calibration expérimentale, par rapport à des fantômes contenant des capillaires fluorescents de concentration connue est réalisée. Comme mentionné, ce coefficient de proportionnalité dépendra non seulement du système de mesure mais aussi de la molécule considérée dans son environnement. La question de la quantification absolue reste encore et toujours ouverte...

#### IV. TECHNIQUES ALTERNATIVES

D'autres voies se développent pour l'examen des tissus biologiques épais. La tendance actuelle consiste à coupler la modalité d'imagerie optique avec des techniques d'imagerie



conventionnelles, alliant, dans la mesure du possible, l'information fonctionnelle à l'information anatomique. Certaines techniques combinent optique et acoustique, dans le but de marquer localement le tissu ; l'analyse polarimétrique de lumière diffusée peut également apporter des informations supplémentaires ; enfin, on peut songer également à changer de longueur d'onde pour aller plus loin dans l'infrarouge (imagerie térahertz) voire dans les microondes.

## IMAGERIE MULTI MODALE

Un besoin croissant pour l'imagerie multimodale se fait sentir, en particulier pour l'imagerie du petit animal. Les études pré-cliniques se basent en effet sur une analyse de multiples paramètres vitaux effectués sur une population de statistique suffisante. Dans ces conditions, il s'agit en effet de concevoir un instrument permettant d'obtenir un maximum d'informations en une seule mesure (Blasberg, 2003). Ainsi, l'intérêt de ce type de systèmes (par exemple systèmes DOT/XCT (Q. Zhang et al., 2005), DOT ou fluorescence DOT/IRM (Brooksby et al., 2006; Choe et al., 2005; Ntziachristos et al., 2002) ou DOT/ultrasons (Holboke et al., 2000; Zhu et al., 1999)) est la possibilité d'avoir sur le même système à la fois l'information anatomique et fonctionnelle *in vivo*. Il est d'autant plus avantageux de coupler les deux techniques que l'information sur la morphologie peut être introduite comme *a priori* et facteur de régularisation pour la résolution du problème inverse optique. Ceci permet en effet d'améliorer considérablement les reconstructions (B. W. Pogue et al., 1999), en introduisant des contraintes spatiales et des informations *a priori* comme par exemple le volume de certains organes (Li et al., 2005; Y. Zhang et al., 2005). La Figure 35 présente un exemple d'image obtenue avec un système tomographique bi-modalité couplant la tomographie par rayons X et la tomographie optique de fluorescence (da Silva et al., 2007).

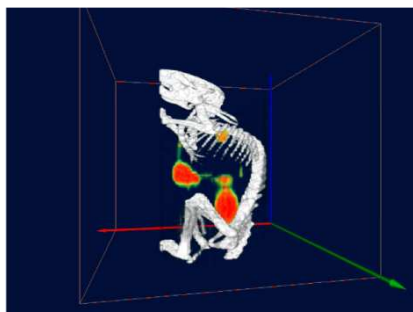


Figure 35: Souris "nude" examinée 12 jours après implantation de cellules tumorales mammaires TSA, se développant dans le poumon. Acquisitions des mesures: 3h après injection intrapéritonéale de 150  $\mu\text{g}$  d'un conjugué transferine/Alexa 750 (Da Silva et al., 2009)

## TECHNIQUES COMBINANT OPTIQUE ET ACOUSTIQUE

Contrairement aux ondes électromagnétiques dans le domaine visible, les ondes acoustiques sont très peu diffusées dans le corps humain. C'est d'ailleurs pour cette raison que l'échographie permet d'atteindre facilement une résolution spatiale millimétrique à travers des organes épais. L'idée de coupler des ondes acoustiques et optiques a pour objectif de tirer parti simultanément des informations optiques révélées par la lumière, et de la résolution spatiale apportée par les ondes acoustiques.

**Acousto-optique.** La méthode acousto-optique consiste à éclairer un milieu de façon relativement uniforme par une onde lumineuse. Un faisceau d'ultrasons focalisé permet de "marquer" localement les photons à la fréquence ultrasonore. Une détection synchrone de la

lumière modulée à cette fréquence permet d'extraire du signal total les photons qui sont passés par la zone de marquage ultrasonore (Selb, 2002).

**Optoacoustique.** L'effet photo-acoustique, ou optoacoustique, a été observé pour la première fois en 1881 par A.G. Bell. Le principe est le suivant: l'onde électromagnétique qui illumine le tissu biologique est en partie absorbée par le milieu ; cette énergie absorbée produit de la chaleur, qui induit à son tour une dilatation du matériau ; cette dilatation crée des ondes acoustiques qui se propagent dans le milieu dans toutes les directions. Le même phénomène est observé si la radiation excitatrice appartient au domaine radiofréquence ou micro-onde. On parle alors de thermo-acoustique.

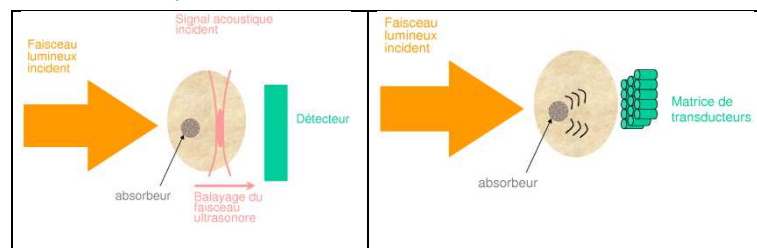


Figure 36: A gauche, principe de la mesure acousto-optique : modulation d'une onde lumineuse à l'aide d'une onde acoustique balayant le milieu ; à droite, principe de la mesure optoacoustique : génération d'une onde acoustique par absorption de l'onde lumineuse.

Le phénomène optoacoustique est directement applicable au domaine de l'imagerie médicale (Kruger, 1994; Oraevsky et al., 1994). Une tumeur plus absorbante que les tissus sains qui l'environnent va générer, sous une illumination optique, une onde acoustique. Il est alors possible de connaître sa position en enregistrant cette onde acoustique à l'aide de transducteurs ultrasonores. Cette technique a été appliquée à l'imagerie *in vivo* de cancers du sein (Oraevsky et al., 2001) et de la cavité orale.

#### *Marqueurs pour l'optoacoustique : diagnostique et thérapie*

Une équipe du *Fraunhofer Institute for Biomedical Technology IBMT in St. Ingbert* (<http://www.fraunhofer.de/EN/press/pi/2007/11/ResearchNews112007Topic2.jsp>, n.d.) adresse plus spécifiquement la problématique du guidage de la biopsie par endoscopie pour le diagnostic précoce du cancer de la prostate combinant optique et ultrasons (imagerie photo acoustique). Pour améliorer le contraste entre tissu sain et cancéreux, ils développent des nano-particules d'or. Des anticorps sont greffés à ces particules pour les rendre spécifiques à certaines protéines. Mais ces particules d'or peuvent potentiellement servir pour la thérapie: l'échauffement contrôlé de ces particules peut détruire localement les cellules cancéreuses.

### IMAGERIE POLARIMETRIQUE

Pour le moment, les techniques basées sur l'analyse polarimétrique de la lumière rétrodiffusée sont largement réservées à un examen superficiel. Il existe deux types d'examen : l'un consiste à effectuer la soustraction de deux mesures en polarisations rectilignes perpendiculaires pour i) s'affranchir du spéculaire et sonder plus profondément ; ii) pour au contraire sélectionner les photons spéculaires ; pour le second, beaucoup plus complet, on effectue l'imagerie des seize composantes de la matrice de Mueller décrivant l'état de polarisation du signal diffusé, ce qui permet de rendre compte de modifications de propriétés optiques des tissus, tels que des effets de dépolarisation, ou de biréfringence.

Une autre approche est apparue très récemment (Georges et al., 2007), non appliquée pour le moment au biomédical. Il s'agit d'appliquer un nouveau principe d'annulation sélective des sources de diffusion, par contrôle des propriétés polarimétriques. En combinant astucieusement les angles entre un analyseur pour polariser rectilignement le faisceau sonde, et un retardateur optique (lames quart d'onde)(Figure 37), il est par exemple possible d'annuler soit la diffusion de surface pour sonder le volume, soit la diffusion de volume pour détecter un objet enfoui.

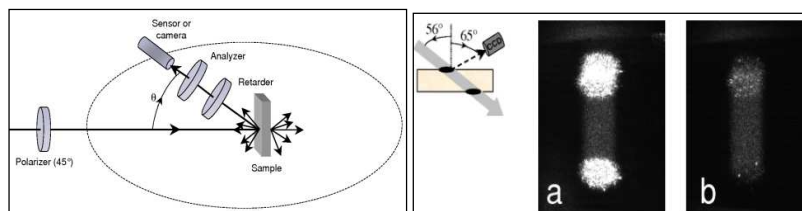


Figure 37 : D'après (Georges et al., 2007) : à gauche, schéma décrivant un exemple type de montage pour l'analyse polarimétrique ; à droite exemple d'images obtenues sur un objet diffusant en surface et en volume avec différentes combinaisons du doublet (analyseur-retardateur) pour obtenir a) l'annulation de la diffusion du volume pour une meilleure visualisation de la surface ; b) l'annulation de la diffusion de surface pour visualiser le volume diffusant.

## TECHNIQUES ELECTROMAGNETIQUES DANS UNE AUTRE GAMME DE LONGUEURS D'ONDE

**L'imagerie térahertz.** Bien au-delà de l'infra-rouge, dans une région intermédiaire entre l'infrarouge et les microondes, on trouve les rayons T, pour des fréquences comprises entre 300 GHz et 20 THz environ. Ce rayonnement est intéressant car il passe, comme les ondes radio, à travers de multiples obstacles. Ces ondes peuvent également être focalisées pour former des images avec une bonne résolution. Dans le domaine biomédical, les applications potentielles sont l'imagerie de caries et la détection de cancers à un stade précoce. Cependant, l'eau est opaque aux rayons T. Le corps humain étant en grande partie constitué d'eau, la profondeur de tissu susceptible d'être analysée se réduit à quelques centaines de microns.

**L'imagerie microondes.** Les contrastes en termes de propriétés diélectriques des tissus biologiques sont très élevés dans la gamme de fréquences microondes (quelques centaines de MHz à quelques GHz). En particulier, dans le cadre de la détection du cancer du sein, les propriétés diélectriques des tissus normaux et malins sont très importantes. On trouve un très fort contraste dans les glandes mammaires et par ailleurs, le sein étant essentiellement constitué de graisse, cet organe est relativement perméable aux microondes (Fear et al., 2003). Cette technique peut venir en complément aux autres techniques d'imagerie conventionnelles, comme le scanner X ou l'IRM, notamment pour l'examen de jeunes patientes pour qui la mammographie n'est pas d'un grand secours.

## V. REFERENCES

- Alfano, R.R., Pradhan, A., Tang, G.C., Wahl, S.J., 1989. Optical Spectroscopic Diagnosis of Cancer and Normal Breast Tissues. *J Opt Soc Am B* 6.
- Anderson, R.R., Parrish, J.A., 1981. The optics of human skin. *J Invest Dermatol* 77, 13–19.
- Arridge, S.R., 1993. Forward and inverse problems in time-resolved infrared imaging; *Medical Opt. Tomography: Functionnal Imaging and Monitoring*, II 35–64.
- Arridge, S.R., 1999. Optical tomography in medical imaging. *Inverse Probl.* 15, R41–R93.
- Arridge, S.R., Cope, M., Delpy, D.T., 1992. The theoretical basis for the determination of optical pathlengths in tissue: temporal and frequency analysis. *Phys Med Biol* 37, 1531–1560.
- Arridge, S.R., Cope, M., van der Zee, P., Hillson, P.J., Delpy, D.T., 1986. Visualisation of the oxygenation state of brain and muscle in newborn infants by near infra-red transillumination, in: Bacharach, S.L. (Ed.), *Information Processing in Medical Imaging*. New York, pp. 155–176.
- Arridge, S.R., Hebden, J.C., 1997. Optical imaging in medicine .2. Modelling and reconstruction. *Phys. Med. Biol.* 42, 841–853.
- Arridge, S.R., Lionheart, W.R.B., 1998. Nonuniqueness in diffusion-based optical tomography. *Opt Lett* 23, 882–884.
- Bigio, I.J., Mourant, J.R., Boyer, J., Johnson, T., Lacey, J., 1996. Elastic scattering spectroscopy as a diagnostic tool for differentiating pathologies in the gastrointestinal tract: preliminary testing. *J Biomed. Opt.* 1, 192–199.
- Blasberg, R.G., 2003. In vivo molecular-genetic imaging: multi-modality nuclear and optical combinations. *Nucl. Med. Biol.* 30, 879–888.
- Boas, D.A., 1996. Diffuse photon probes of structural and dynamical properties of turbid media: theory and biomedical applications. University of Pennsylvania.
- Boas, D.A., Brooks, D.H., Miller, E.L., DiMarzio, C.A., Kilmer, M., Gaudette, R.J., Zhang, Q., 2001. Imaging the body with diffuse optical tomography. *Ieee Signal Process. Mag.* 18, 57–75.
- Bright, R., 1831. Serous cysts in the arachnoid. *Diseases of the brain and nervous system, part I : reports of medical cases selected with a view of illustrating the symptoms and cure of diseases by a reference to morbid anatomy*. Vol. 2. London.
- Brooksby, B., Pogue, B.W., Jiang, S.D., Dehghani, H., Srinivasan, S., Kogel, C., Tosteson, T.D., Weaver, J., Poplack, S.P., Paulsen, K.D., 2006. Imaging breast adipose and fibroglandular tissue molecular signatures by using hybrid MRI-guided near-infrared spectral tomography. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 103, 8828–8833.
- Case, K.M., Zweifel, P.F., 1967. *Linear transport theory*. Addison-Wesley.
- Cerussi, A.E., Bevilacqua, F., Shah, N., Jakubowski, D., Butler, J., Holcombe, R.F., Tromberg, B.J., 2001. Sources of Absorption and Scattering Contrast for Near-Infrared Optical Mammography. *Acad Radiol* 8, 211–218.
- Chandrasekhar, S., 1943. Stochastic problems in physics and astronomy. *Rev Mod Phys* 15, 1–88.
- Chandrasekhar, S., 1960. *Radiative transfert*. Dover publication.
- Cheong, W.-F., Prah, S.A., Welch, A.J., 1990. A review of the optical properties of biological tissues. *Ieee J. Quantum Electron.* 26, 2166–2185.
- Choe, R., 2005. Diffuse Optical Tomography and Spectroscopy of Breast Cancer and Fetal Brain. Université de Pennsylvanie.
- Choe, R., Corlu, A., Lee, K., Durduran, T., Konecky, S.D., Grosicka-Koptyra, M., Arridge, S.R., Czerniecki, B.J., Fraker, D.L., DeMichele, A., Chance, B., Rosen, M.A., Yodh, A.G., 2005. Diffuse optical tomography of breast cancer during neoadjuvant chemotherapy: A case study with comparison to MRI. *Med. Phys.* 32, 1128–1139.
- Cope, M., Delpy, D.T., 1988. System for long-term measurement of cerebral blood and tissue oxygenation on newborn infants by near infrared transillumination. *Med Biol Eng Comput* 26, 289–294.
- Corlu, A., Choe, R., Durduran, T., Rosen, M.A., Schweiger, M., Arridge, S.R., Schnall, M.D., Yodh, A.G., 2007. Three-dimensional in vivo fluorescence diffuse optical tomography of breast cancer in humans. *Opt. Express* 15, 6696–6716.
- Corlu, A., Durduran, T., Choe, R., Schweiger, M., Hillman, E.M.C., Arridge, S.R., Yodh, A.G., 2003. Uniqueness and wavelength optimization in continuous-wave multispectral diffuse optical tomography. *Opt. Lett.* 28, 2339–2341.
- Curling, T., 1856. *A Practical Treatise on the Diseases of the Testis, and of the Spermatic Cord and Scrotum : With Numerous Wood Engravings*. Philadelphia.
- Cutler, M., 1929. Transillumination as an aid in the diagnosis of breast lesions. *Surg Gynecol Obstet* 48, 721–729.
- Cutler, M., 1931. Transillumination of the breast. *Ann. Surg.* 93, 223–234.
- D.A. Boas, T. Gaudette, G. Strangman, X. Cheng, J.A. Marota, Mandeville, B., 2001. The accuracy of near infrared spectroscopy and imaging during focal changes in cerebral hemodynamics. *NeuroImage* 13, 76–90.
- Da Silva, A., 2001. Etude théorique et expérimentale de la diffusion de la lumière dans des milieux hétérogènes denses multicouches. Université P. et M. Curie Paris VI, Doctorat.
- Da Silva, A., 2010. L'imagerie Optique, in: Fanet, H. (Ed.), *Imagerie Médicale à Base de Photons, Radiologie, Tomographie X, Tomographie Gamma Et Positons, Imagerie Optique*,. Hermès, p. 303–.
- Da Silva, A., Andraud, C., Charron, E., Stout, B., Lafait, J., 2003a. Multiple light scattering in multistratified media : theory, experiments. *Phys. B* 338, 74–78.

- Da Silva, A., Andraud, C., Lafait, J., Robin, T., Barrera, R., 2004. Model for angular distribution of light scattered by multilayered media. *J Mod Opt.* 51, 313–332.
- Da Silva, A., Djaker, N., Ducros, N., Dinten, J.M., Rizo, P., 2010. Real time optical method for localization of inclusions embedded in turbid media. *Opt. Express* 18, 7753–7762.
- Da Silva, A., Elias, M., Andraud, C., Lafait, J., 2003b. Comparison between the auxiliary function method and the discrete-ordinate- method for solving the radiative transfer equation for light scattering. *Josa* 20, 2321–2329.
- Da Silva, A., Leabad, M., Bordy, T., Dinten, J.-M., Peltié, P., Rizo, P., 2007. Design of a Small Animal Multimodality Tomographer for X-Ray and Optical Coupling: Theory and experiments. *Nucl. Instruments Methods Phys. Res.* 571, 118–121.
- Da Silva, A., Leabad, M., Driol, C., Bordy, T., Debourdeau, M., Dinten, J.-M., Peltié, P., Rizo, P., 2009. Optical calibration protocol for X-ray and optical multimodality tomography system dedicated to small animal examination. *Appl. Opt.* 48, D151– D162.
- Depeursinge, C., 2002. La Tomographie- Fondements mathématiques, imagerie microscopique et imagerie industrielle, IC2 (Information, Commande, Communication), in: Grangeat, P. (Ed.), Hermes, p. 163,218.
- Devor, A., Dunn, A.K., Andermann, M.L., Ulbert, I., Boas, D.A., Dale, A.M., 2003. Coupling of total hemoglobin concentration, oxygenation, and neural activity in rat somatosensory cortex. *Neuron* 39, 353–359.
- Ducros, N., 2009. Tomographie optique de fluorescence dans les milieux diffusants : apport de l'information temporelle. Université Claude Bernard - Lyon I, Lyon.
- Ducros, N., da Silva, A., Dinten, J.-M., Peyrin, F., 2008. Approximations of the measurable quantity in diffuse optical problems : theoretical analysis of models deviations. *J Opt Soc Am* 25, 1174–1180.
- Ducros, N., Da Silva, A., Dinten, J.-M., Peyrin, F., 2009. Impact of the Measurement Model Deviations on Fluorescence Diffuse Optical Tomography, in: European Conferences On Biomedical Optics (ECBO). p. 73690T.
- Ducros, N., Da Silva, A., Dinten, J.M., Seelamantula, C.S., Unser, M., Peyrin, F., 2010. A time-domain wavelet-based approach for fluorescence diffuse optical tomography. *Med. Phys.* 37, 2890–2900.
- Ducros, N., Da Silva, A., Dinten, J.-M., Sekhar Seelamantula, C., Unser, M., Peyrin, F., 2009a. Time resolved fluorescence diffuse optical tomography using multi-resolution exponential b-splines. Presented at the ISBI.
- Ducros, N., Da Silva, A., Herve, L., Dinten, J.M., Peyrin, F., 2009b. A comprehensive study of the use of temporal moments in time-resolved diffuse optical tomography: part II. Three-dimensional reconstructions. *Phys. Med. Biol.* 54, 7107–7119.
- Ducros, N., Herve, L., Da Silva, A., Dinten, J.M., Peyrin, F., 2009c. A comprehensive study of the use of temporal moments in time-resolved diffuse optical tomography: part I. Theoretical material. *Phys. Med. Biol.* 54, 7089–7105.
- Durduran, T., Choe, R., Baker, W.B., Yodh, A.G., 2010. Diffuse optics for tissue monitoring and tomography. *Reports Prog. Phys.* 73, 076701.
- Durduran, T., Yu, G.Q., Burnett, M.G., Detre, J.A., Greenberg, J.H., Wang, J.J., Zhou, C., Yodh, A.G., 2004. Diffuse optical measurement of blood flow, blood oxygenation, and metabolism in a human brain during sensorimotor cortex activation. *Opt. Lett.* 29, 1766–1768.
- Durduran, T., Zhou, C., Buckley, E.M., Kim, M.N., Yu, G., Choe, R., Gaynor, J.W., Spray, T.L., Durning, S.M., Mason, S.E., Montenegro, L.M., Nicolson, S.C., Zimmerman, R.A., Putt, M.E., Wang, J., Greenberg, J.H., Detre, J.A., Yodh, A.G., Licht, D.J., 2010. Optical measurement of cerebral hemodynamics and oxygen metabolism in neonates with congenital heart defects. *J. Biomed. Opt.* 15.
- Eason, G., Veitch, A.R., Nisbet, R.M., Turnbull, F.W., 1978. The theory of the back-scattering of light by blood. *J. Phys. Appl. Phys.* 11, 1463.
- Falconet, J., Laidevant, A., Sablong, R., da Silva, A., Berger, M., Jaillon, F., Perrin, E., Dinten, J.-M., Saint-Jalmes, H., 2008. Estimation of Optical Properties of Turbid Media: Experimental Comparison of Spatially and Temporally Resolved Reflectance Methods. *Appl. Opt.* 47, 1734– 1739.
- Farrell, T.J., Patterson, M.S., 1992. A diffusion theory model of spatially resolved, steady-state diffuse reflectance for the non-invasive determination of tissue optical properties in vivo. *Med. Phys.* 19, 879–888.
- Fear, E., Meaney, P., Stuchly, M.A., 2003. Microwaves for breast cancer detection? *Ieee Potentials* 12–18.
- Franceschini, M.A., Toronov, V., Filiaci, M.E., Gratton, E., Fantini, S., 2000. On-line optical imaging of the human brain with 160-ms temporal resolution. *Opt. Express* 6, 49–57.
- Gao, F., Zhao, H.J., Tanikawa, Y., Yamada, Y., 2006. A linear, featured data scheme for image reconstruction in time-domain fluorescence molecular tomography. *Opt Express* 14, 7109– 7124.
- Gelebart, B., 1998. Réflectance résolue dans le temps et dans l'espace appliquée à l'étude de milieux stratifiés - résultats préliminaires sur des phantoms optiques de tissus biologiques. Université Paris-Nord.
- Georges, G., Deumié, C., Amra, C., 2007. Selective probing and imaging in random media based on the elimination of polarized scattering. *Opt. Express* 15, 9804–9816.
- Gibson, A.P., Hebden, J.C., Arridge, S.R., 2005. Recent advances in diffuse optical imaging. *Phys. Med. Biol.* 50, R1–R43.
- Gobin, L., Blanchot, L., Saint-Jalmes, H., 1999. Integrating the digitalized backscattered image to measure absorption and reduced-scattering coefficients in vivo. *Appl. Opt.* 38, 4217–4227.

- Godavarty, A., Eppstein, M.J., Zhang, C.Y., Theru, S., Thompson, A.B., Gurfinkel, M., Sevick-Muraca, E.M., 2003. Fluorescence-enhanced optical imaging in large tissue volumes using a gain-modulated {ICCD} camera. *Phys. Med. Biol.* 48, 1701–1720.
- Gratton, G., Fabiani, M., 2001. Shedding light on brain function: the event-related optical signal. *Trends Cogn. Sci.* 5, 357–363.
- Grosenick, D., Wabnitz, H., Ebert, B., 2012. Review: Recent advances in contrast-enhanced near infrared diffuse optical imaging of diseases using indocyanine green. *J. Infrared Spectrosc.* 20, 203–221.
- Hall, D., al., et, 2006. In Vivo Fluorescence Lifetime Imaging of Optical Probes in Small Animals, in: *Biomedical Optics 2006 Technical Digest*. Optical Society of America, Washington, DC, p. Tu22.
- Hall, D., Ma, G., Lesage, F., Wang, Y., 2004. Simple time-domain optical method for estimating the depth and concentration of a fluorescent inclusion in a turbid medium. *Opt. Lett.* 29, 2258–2260.
- Hebden, J.C., Arridge, S.R., Delpy, D.T., 1997. Optical imaging in medicine .1. Experimental techniques. *Phys. Med. Biol.* 42, 825–840.
- Hebden, J.C., Hall, D.J., Firbank, M., Delpy, D.T., 1995. Time-resolved optical imaging of a solid tissue-equivalent phantom. *Appl Opt* 34, 8038–804.
- Hebden, J.C., Veenstra, H., Dehghani, H., Hillman, E.M.C., Schweiger, M., Arridge, S.R., Delpy, D.T., 2001. Three dimensional time-resolved optical tomography of a conical breast phantom. *Appl Opt* 40, 3278–3287.
- Heney, L., Greenstein, J., 1941. Diffuse radiation in the galaxy. *Astrophys J.* 93, 70–83.
- Hervé, L., Puszka, A., Planat-Chrétien, A., Dinten, J.-M., 2012. Time-domain diffuse optical tomography processing by using the Mellin–Laplace transform. *Appl. Opt.* 51, 5978–5988.
- Hielscher, A.H., 2005. Optical tomographic imaging of small animals. *Curr. Opin. Biotechnol.* 16, 79–88.
- Hillman, E.M.C., Hebden, J.C., Schmidt, F.E.W., Arridge, S.R., Schweiger, M., Dehghani, M., Delpy, D.T., 2000. Calibration techniques and datatype extraction for time-resolved optical tomography. *Rev. Sci. Instrum.* 71, 3415–3427.
- Hillman, E.M.C., Hebden, J.C., Schweiger, M., Dehghani, M., Schmidt, F.E.W., Delpy, D.T., Arridge, S.R., 2001. Time resolved optical tomography of the human forearm. *Phys Med Biol* 46, 1117–1130.
- Holboke, M.J., Tromberg, B.J., Li, X., Shah, N., Fishkin, J., Kidney, D., Butler, J., Chance, B., Yodh, A.G., 2000. Three-dimensional diffuse optical mammography with ultrasound localization in a human subject. *J Biomed. Opt.* 5, 237–247.
- Hoogenraad, J.H., van-der-Mark, M.B., Colak, S.B., 't-Hooft, G.W., van-der-Linden, E.S., 1997. First results from the Philips optical mammoscope, in: *SPIE (Ed.)*, pp. 184–190.
- <http://omlc.ogi.edu>, n.d.
- <http://www.art.ca>, n.d.
- <http://www.fraunhofer.de/EN/press/pi/2007/11/ResearchNews112007Topic2.jsp>, n.d.
- <http://www.lrsm.upenn.edu/pmi/>, n.d.
- <http://www.nmr.mgh.harvard.edu/DOT/>, n.d.
- <http://www.nml.dartmouth.edu/nir/pubs.html>, n.d.
- Hutchinson, C.L., Lakowicz, J.R., Sewick-Muraca, E.M., 1995. Fluorescence lifetime-based sensing in tissues: a computational study. *Biophys. J.* 68, 1574–1582.
- Intes, X., Le Jeune, B., Pellen, F., Guern, Y., Cariou, J., Lotrian, J., 1999. Localization of the virtual point source used in the diffusion approximation to model a collimated beam source. *Waves Random Media* 9, 489–499.
- Ishimaru, A., 1978. *Wave propagation and scattering in random media*. Academic, New York.
- Jacques, S.L., Alter, C., Prahl, S.A., 1987. Angular dependence of HeNe laser light scattering by human dermis. *Lasers Life Sci.* 1, 309–333.
- Jobsis, F., 1977. Noninvasive, infrared monitoring of cerebral and myocardial oxygen sufficiency and circulatory parameters. *Science* 198, 1264–1267.
- Klose, A., Hielscher, A., Hanson, K., Beuthan, J., 1998. Two- and three-dimensional optical tomography of finger joints for diagnostics of rheumatoid arthritis, in: *SPIE (Ed.)*, pp. 151–159.
- Klose, A.D., 2003. Fluorescence tomography with simulated data based on the equation of radiative transfer. *Opt. Lett.* 28, 1019–1021.
- Klose, A.D., Ntziachristos, V., Hielscher, A.H., 2005. The inverse source problem based on the radiative transfer equation in optical molecular imaging. *J Comput Phys* 202, 323–345.
- Kruger, R.A., 1994. Photoacoustic ultrasound. *Med. Phys.* 21, 127–131.
- Lai, J.-C., Zhang, Y.-Y., Li, Z.-H., Jiang, H.-J., He, A.-Z., 2010. Complex refractive index measurement of biological tissues by attenuated total reflection ellipsometry. *Appl. Opt.* 49, 3235–3238.
- Laidevant, A., 2006. Méthodes optiques résolues en temps pour la tomographie de fluorescence dans les milieux diffusants. *Joseph Fourier - Grenoble I, Grenoble*.
- Laidevant, A., da Silva, A., Berger, M., Dinten, J.-M., 2006a. Effects of the surface boundary on the determination of the optical properties of a turbid medium with time-resolved reflectance. *Appl. Opt.* 45, 4756–4764.
- Laidevant, A., Da Silva, A., Berger, M., Dinten, J.-M., 2006b. Effects of the surface boundary on the determination of the optical properties of a turbid medium with time-resolved reflectance. *Appl. Opt.* 45, 4756–4764.
- Laidevant, A., Herve, L., Debourdeau, M., Boutet, J., Grenier, N., Dinten, J.-M., 2011. Fluorescence time-resolved imaging system embedded in an ultrasound prostate probe. *Biomed. Opt. Express* 2, 194–206.

- Lakowicz, J.R., 1983. Principles of fluorescence spectroscopy. Plenum Press, New York, N.Y.
- Lam, S., Lesage, F., Intes, X., 2005. Time domain fluorescent diffuse optical tomography: analytical expressions. *Opt. Express* 13, 2263–2275.
- Li, A., Boverman, G., Zhang, Y., Brooks, D., Miller, E.L., Kilmer, M.E., Zhang, Q., Hillman, E.M.C., Boas, D., 2005. Optimal linear inverse solution with multiple priors in diffuse optical tomography. *Appl. Opt.* 44, 1948–1956.
- Liemert, A., Kienle, A., 2012. Infinite space Green's function of the time-dependent radiative transfer equation. *Biomed Opt Express* 3, 543–551.
- Liu, H., Miwa, M., Beauvoit, B., Wang, N.G., Chance, B., 1993. Characterization of absorption and scattering properties of small-volume biological samples using time-resolved spectroscopy. *Anal. Biochem.* 213, 378–385.
- Maris, M., Gratton, E., Maier, J., Mantulin, W., Chance, B., 1994. Functional near-infrared imaging of deoxygenated hemoglobin during exercise of the finger extensor muscles using the frequency domain technique. *Bioimaging* 2, 174–183.
- Marshak, R.E., 1947. Note on the Spherical Harmonic Method As Applied to the Milne Problem for a Sphere. *Phys. Rev.* 71, 443–446.
- Meek, J.H., Elwell, C.E., Khan, M.J., Romaya, J., Wyatt, J.S., Delpy, D.T., Zeki, S., 1995. Regional Changes in Cerebral Haemodynamics as a Result of a Visual Stimulus Measured by Near Infrared Spectroscopy. *Proc Roy Soc Lond. B* 261, 351–356.
- Mie, G., 1908. Beiträge zur Optik trüber Medien, speziell kolloidaler Metallösungen. *Ann Phys Leipz.* 25, 377–445.
- Milne, E.A., 1921. . *Mon. Notices Roy. Astron. Soc.* 361–375.
- Moulton, J.D., 1990. Diffusion modelling of picosecond laser pulse propagation in turbid media ({M}aster's dissertation ({M}aster {U}niversity, {H}amilton, {O}nt.)).
- Mourant, J.R., Bigio, I.J., Boyer, J., Johnson, T., Conn, R., 1995. Spectroscopic diagnosis of bladder cancer with elastic light scattering. *Lasers Surg. Med.* 17, 350–357.
- Ntziachristos, V., Ma, X., Chance, B., 1998. Time-correlated single photon counting imager for simultaneous magnetic resonance and near infrared mammography. *Rev. Sci. Instrum.* 69, 4221–4233.
- Ntziachristos, V., Weissleder, R., 2001. Experimental three-dimensional fluorescence reconstruction of diffuse media by use of a normalized Born approximation. *Opt. Lett.* 26, 893–895.
- Ntziachristos, V., Yodh, A.G., Schnall, M.D., Chance, B., 2002. MRI-guided diffuse optical spectroscopy of malignant and benign breast lesions. *Neoplasia* 4, 347–354.
- Oraevsky, A., Jacques, S.L., Esenaliev, R.O., Tittel, F.K., 1994. Laser-based optoacoustic imaging in biological tissues, in: Jacques, S.L. (Ed.), *Laser-Tissue Interaction V. SPIE*, pp. 122–128.
- Oraevsky, A.A., Andreev, V.A., Karabutov, A.A., Solomatin, S.V., Savateeva, E.V., Fleming, R., Gatalica, Z., Singh, H., 2001. Laser optoacoustic imaging of breast cancer in vivo, in: *Biomedical Optoacoustics II. SPIE*, pp. 6–15.
- Patterson, M.S., Chance, B., Wilson, B.C., 1989. Time-resolved reflectance and transmittance for the non invasive measurement of tissue optical properties. *Appl. Opt.* 28, 2331–2336.
- Perelman, L.T., Wu, J., Itzkan, I., Feld, M.S., 1994. Photon Migration in Turbid Media Using Path-Integrals. *Phys. Rev. Lett.* 72, 1341–1344.
- Péry, E., Amouroux, M., Díaz-Ayil, G., Blondel, W.C.P.M., Bourg-Heckly, G., D'Hallewin, M.-A., Leroux, A., Guillemain, F., 2008. Multi-modality Point Spectroscopy: interests, development and application to in vivo diagnosis of bladder and skin cancers. Presented at the 16th IEEE Mediterranean Conference on Control and Automation, MED'08.
- Piao, D., Xie, H., Zhang, W.L., Krasinski, J.S., Zhang, G.L., Dehghani, H., Pogue, B.W., 2006. Endoscopic, rapid near-infrared optical tomography. *Opt. Lett.* 31, 2876–2878.
- Pogue, B., McBride, T.O., Österberg, U., Paulsen, K., 1999. Comparison of imaging geometries for diffuse optical tomography of tissue. *Opt Express* 4, 270–286.
- Pogue, B.W., McBride, T.O., Prewitt, J., Osterberg, U.L., Paulsen, K.D., 1999. Spatially variant regularization improves diffuse optical tomography. *Appl. Opt.* 38, 2950–2961.
- Rayleigh, Lord, 1871. On the scattering of light by small particles. *Phil Mag* 41, 447–454.
- Riley, J., Hassan, M., Chernomordik, V., Gandjbakhche, A., 2007. Choice of data types in time resolved fluorescence enhanced diffuse optical tomography. *Med. Phys.* 34, 4890–4900.
- Rinneberg, H., Grosenick, D., Wabnitz, H., Danlewski, H., Moesta, K., Schlag, P., 1998. Time domain optical mammography: results on phantoms, healthy volunteers, and patients, in: *OSA (Ed.), OSA Technical Digest, Biomedical Topical Meetings*. Washington DC, pp. 278–280.
- Segelstein, D., 1981. The Complex Refractive Index of Water (M.S. Thesis). University of Missouri, Kansas City.
- Selb, J., 2002. Source virtuelle acousto-optique pour l'imagerie des milieux diffusants. UNIVERSITÉ PARIS XI, PARIS.
- Selb, J., al., et, 2006a. Time domain optical imager for depth-resolved 1.8 Hz functional imaging of the adult head, in: *Biomedical Optics 2006 Technical Digest*. Optical Society of America, Washington, DC, p. MD6.
- Selb, J., al., et, 2006b. Time-gated optical system for depth-resolved functional brain imaging. *J Biomed. Opt.* 11.
- Selb, J., Dale, A.M., Boas, D.A., 2007. Linear 3D reconstruction of time-domain diffuse optical imaging differential data: improved depth localization and lateral resolution. *Opt. Express* 15, 16400–16412.
- Sevick-Muraca, E.M., Burch, C.L., 1994. Origin of phosphorescence signals reemitted from tissues. *Opt. Lett.* 19, 1928–1930.

- Svensson, T., al., et, 2006. In Vivo Optical Characterization of Human Prostatic Tissue using Time-resolved Near Infra-red Spectroscopy, in: America, O.S. of (Ed.), Presented at the Biomedical Optics 2006 Technical Digest, p. SD4.
- Taroni, P., Torricelli, A., Spinelli, L., Pifferi, A., Arpaia, F., Danesini, G., Cubeddu, R., 2005. Time-resolved optical mammography between 637 and 985 nm: clinical study on the detection and identification of breast lesions. *Phys. Med. Biol.* 50, 2469–2488.
- Tuchin, V., 2000. *Tissue optics: Light Scattering Methods and Instruments for Medical Diagnosis*. SPIE Press.
- Tuchin, V., 2006. *Optical clearing of tissues and blood*. SPIE Press.
- Van Staveren, H.G., Moes, C.J.M., van Marle, J., Prahl, S.A., van Gemert, M.J.C., 1991. Light scattering in Intralipid-10% in the wavelength range of 400-1100 nanometers. *Appl. Opt.* 31, 4507–4514.
- Villringer, A., Chance, B., 1997. Non-invasive optical spectroscopy and imaging of human brain function. *Trends Neurosci.* 20, 435–442.
- Vo-Dinh, T., 2003. *Biomedical Photonics Handbook*. CRC Press.
- Wagnieres, G.A., Star, W.M., Wilson, B.C., 1998. In vivo fluorescence spectroscopy and imaging for oncological applications. *Photochem Photobiol* 68, 603–632.
- Wang, L., Jacques, S.L., 1995. Use of a laser beam with an oblique angle of incidence to measure the reduced scattering coefficient of a turbid medium. *Appl. Opt.* 34, 2362–2366.
- Webber, J., Kessel, D., Fromm, D., 1997. Plasma levels of protoporphyrin IX in humans after oral administration of 5-aminolevulinic acid. *J Photochem Photobiol B* 37, 151–153.
- Weissleder, R., Ntziachristos, V., 2003. Shedding light onto live molecular targets. *Nat. Med.* 9, 123\_128.
- Wright, S., Schweiger, M., Arridge, S.R., 2007. Reconstruction in optical tomography using the PN approximations. *Meas Sci Technol* 18, 79–86.
- Wu, J., Perelman, L., Dasari, R.R., Feld, M.S., 1997. Fluorescence tomographic imaging in turbid media using early-arriving photons and Laplace transforms. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 94, 8783–8788.
- Yamashita, Y., Maki, A., Koizumi, H., 1996. Near-infra-red topographic measurement system: Imaging of absorbers localized in a scattering medium. *Rev Sci Instrum* 67, 730–732.
- Zhang, Q., Brukilacchio, T.J., Li, A., Stott, J.J., Chaves, T., Hillman, E.M.C., Wu, T., Chorlton, M., Rafferty, E., Moore, R.H., Kopans, D.B., Boas, D.A., 2005. Coregistered tomographic x-ray and optical breast imaging: initial results. *J Biomed Opt* 10.
- Zhang, Y., Brooks, D.H., Boas, D.A., 2005. A haemodynamic response function model in spatio-temporal diffuse optical tomography. *Phys Med Biol* 50, 4625–4644.
- Zhu, Q., Durduran, T., Ntziachristos, V., Holboke, M., Yodh, A.G., 1999. Imager that combines near-infrared diffusive light and ultrasound. *Opt. Lett.* 24, 1050–1052.
- Zint, C.V., Gao, F., Torregrossa, M., Poulet, P., 2001. Near-infrared optical tomography of scattering cylindrical phantoms using time-resolved detection. *SPIE*, pp. 109–119.





## CHAPITRE 2 : IMAGERIE OPTIQUE MOLECULAIRE, DU PETIT ANIMAL A L'HUMAIN: DEVELOPPEMENT DE TOMOGRAPHES OPTIQUES POUR L'EXAMEN IN VIVO

### CONTENU

Chapitre 2 : Imagerie optique moléculaire, du petit animal à l'humain: Développement de tomographes

optiques pour l'examen in vivo .....	61
I. Géométrie plane .....	64
II. Géométrie cylindrique pour l'imagerie bi-modalité .....	74
III. Géométrie quelconque : Méthodes numériques pour la tomographie optique diffuse de fluorescence .....	81
Accélération des algorithmes de résolution du modèle direct.	93
IV. Vers une tomographie résolue en temps .....	95
Mesures temporelles	95
Algorithme de reconstruction de zones fluorescentes	97
Méthode rapide de localisation d'un objet absorbant ou fluorescent.	99
Nanoparticules pour l'imagerie	99
V. Conclusion .....	100
VI. Références .....	102

Certaines techniques d'imagerie exploitent exclusivement l'interaction énergie-tissu (IRM et CT, DOT), tandis que d'autres (SPECT et TEP, FDOT) nécessitent l'administration d'une sonde ou d'un agent de contraste. *In vivo*, ces sondes permettent d'accéder à l'examen d'un processus biologique spécifique, et ceci au niveau physiologique ou moléculaire. Depuis les travaux de R. Weissleder et de son laboratoire (Bremer et al., 2001; Weissleder et al., 1999), de nombreux types de 'smart probes' (sondes intelligentes), activables et détectables uniquement lors de l'interaction avec la cible, sont disponibles, ce qui améliore significativement le rapport signal sur bruit lors de mesures *in vivo*. Elles sont typiquement constituées d'une part, d'une sonde détectable par une technique d'imagerie donnée (Tableau 4) et, d'autre part, d'un composé ciblant, qui peut être une petite molécule, un peptide, une enzyme ou un anticorps.

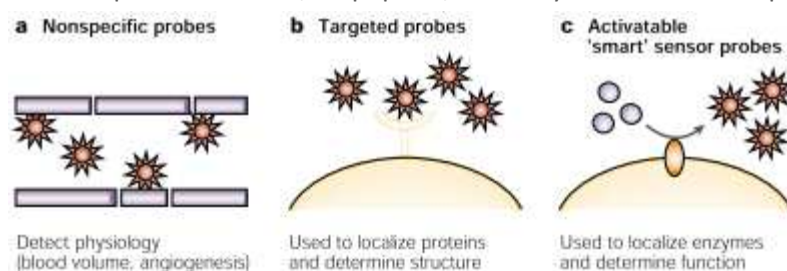


Figure 38 : Illustration des différents types de sondes fluorescentes (Extrait de (Weissleder, 2002))

L'instrument d'imagerie idéal devrait présenter les caractéristiques suivantes :

- Haute résolution ;
- Imagerie à toutes les profondeurs ;
- Acquisition rapide ;
- Agents de contrastes performants (rendement quantique élevé) ;
- Quantification ;
- Faible coût pour ce qui concerne l'examen du petit animal.

Table 1   Overview of mouse imaging systems						
Technique	Resolution	Depth	Time	Imaging agents	Cost	Primary use
Magnetic resonance imaging (MRI)	10–100 $\mu\text{m}$	No limit	Min/hours	Gadolinium, dysprosium, iron oxide particles	\$\$\$	Best all-round imaging system with high contrast; used in phenotyping, physiological imaging and cell tracking
X-ray computed tomography (CT) imaging	50 $\mu\text{m}$	No limit	Min	Iodine	\$\$	Lung and bone-tumour imaging
Ultrasound imaging	50 $\mu\text{m}$	mm	Min	Microbubbles	\$\$	Vascular and interventional imaging
Positron emission tomography (PET) imaging	1–2 mm	No limit	Min	$^{18}\text{F}$ , $^{11}\text{C}$ , $^{15}\text{O}$	\$\$\$	Imaging metabolism of molecules, such as glucose, thymidine and so on
Single photon emission tomography (SPECT) imaging	1–2 mm	No limit	Min	$^{99\text{m}}\text{Tc}$ , $^{111}\text{In}$	\$\$	Imaging of probes such as antibodies, peptides and so on
Fluorescence reflectance imaging (FRI)	1–2 mm	< 1 cm	Sec/min	Fluorescent proteins NIR fluorochromes	\$	Rapid screening of molecular events in surface-based tumours
Fluorescence-mediated tomography (FMT)	1–2 mm	< 10 cm	Sec/min	NIR fluorochromes	\$\$	Quantitative imaging of targeted or 'smart' fluorochrome reporters in deep tumours
Bioluminescence imaging (BLI)	Several mm	cm	Min	Luciferin	\$\$	Gene expression, cell tracking
Intravital microscopy (confocal, multiphoton)	1 $\mu\text{m}$	< 400 $\mu\text{m}$	Sec/min	Fluorescent proteins, photoproteins, fluorochromes	\$\$\$	All of the above at higher resolutions but at limited depths and coverage
Cost of system: \$ < 100 K; \$\$ 100–300 K; \$\$\$ > 300 K. C, carbon; F, fluorine; In, indium; NIR, near infrared; O, oxygen; $^{99\text{m}}\text{Tc}$ , technetium metastable.						

Tableau 4 : Extrait de (Weissleder, 2002)

Le Tableau 4 présente de manière très explicite les caractéristiques, avantages et inconvénients, des différentes techniques disponibles d'imagerie du petit animal. On peut en conclure qu'il n'y a pas d'instrument idéal mais l'idée est de concevoir un instrument satisfaisant au mieux ce cahier des charges.

Ce chapitre résume mes activités dans le domaine de la tomographie optique diffuse de fluorescence (FDOT), réalisées principalement dans la période 2003-2009, au Laboratoire Imagerie et Systèmes d'Acquisition (LISA) du Département des microTechnologies pour la Biologie et la Santé (DTBS) du CEA-LETI, à Grenoble.

Mes travaux ont débuté dans le cadre du programme interne au CEA-LETI, RTB (Recherche Technologique de Base) IMO3D (Imagerie Moléculaire Optique 3D), mis en place dans le but de générer du ressourcement en matière de recherche amont. Le programme a été conduit en collaboration étroite avec d'une part, J.-L. Coll et V. Josserand du département oncogénèse et biotechnologie de l'Institut Albert Bonniot (IAB), dont les recherches portent spécifiquement sur la recherche en thérapie ciblée, le diagnostic précoce et l'imagerie du cancer, en particulier cancer du poumon, et d'autre part I. Texier du Laboratoire de Fonctionnalisation et Chimie des Microsystèmes (LFCM) du CEA-LETI, photochimiste spécialisée dans le développement de sondes

optiques. L'objectif était donc de développer une instrumentation pour favoriser la compréhension de la genèse tumorale, l'interaction entre les cellules tumorales et le milieu hôte, et des effets spécifiques des traitements pharmacologiques. Ces travaux ont donc accompagné le développement des sondes moléculaires, développées pour cibler spécifiquement les tumeurs pour une meilleure visualisation et quantification de la croissance tumorale.

Guidés par le cahier des charges établi plus haut, l'idée était de développer un tomographe optique spécialement dédié à l'examen du petit animal, permettant d'accéder à une information quantitative sur la biobistribution des sondes fluorescentes. La Tomographie Optique Diffuse en mode fluorescent (FDOT pour *Fluorescence Diffuse Optical Tomography*) permet cela. La forme et l'amplitude du signal fluorescent émis par des molécules (marqueurs) disséminées dans un milieu diffusant et absorbant contient toutes les informations sur le milieu diffusant (absorption, diffusion) et sur les molécules elles-mêmes (concentration, répartition spatiale, temps de vie si l'on travaille avec une résolution temporelle ou fréquentielle). Dès lors, compte tenu du nombre d'inconnues, on comprend que le problème devra être résolu par étapes successives, avec une validation à chaque étape : nous avons donc naturellement commencé, comme d'autres équipes, par simplifier la géométrie du système (ramené à un système plan) et considérer des milieux de propriétés optiques calibrées (« fantômes »). La FDOT présentait en effet à l'époque un certain nombre verrous en matière de modélisation qui contraignaient considérablement l'instrumentation et biaisaient les résultats expérimentaux. Classiquement, dans la littérature de l'époque, on fait l'hypothèse de :

- milieux à géométrie simple (semi-infini, plan à faces parallèle, « slab » en Anglais), ce qui contraint à l'utilisation de liquide d'adaptation d'indice ;
- milieux homogènes optiquement ce qui crée des erreurs de quantifications.

Mes travaux ont donc tout d'abord porté sur la levée de ces deux contraintes tout en conservant une instrumentation simple, soit un système fonctionnant en *mode continu*. La géométrie du système a ensuite été sophistiquée, et on traite aujourd'hui le cas de géométries quelconques, *via* une résolution numérique du problème. Comme la mesure optique ne donne pas d'information anatomique, le système optique a été couplé à une chaîne de tomographie par rayons X. Ce travail a été réalisé initialement dans le cadre du stage de DRT de Mehdi Leabad (ENSPG), pour la partie instrumentale, et du projet de fin d'étude de Clémence Driol (ENSPS), pour la partie théorique. Les résultats préliminaires de ces travaux ont permis d'engager deux collaborations au niveau européen : l'une dans le cadre du projet FMT-XCT porté par V. Ntziachristos et regroupant (8 partenaires) et l'autre avec la société suisse Scanco.

En parallèle des développements de tomographes dédiés au petit animal, nous nous sommes également intéressés au transfert de la technique à l'humain (Da Silva et al., 2008), toujours en accompagnement des avancées scientifiques en matière de sondes fluorescentes, sachant qu'à l'époque, aucun marqueur fluorescent suffisamment spécifique n'était disponible dans le rouge ou le proche infrarouge. Les organes susceptibles d'être examinés par la technique, *in vivo*, sont le sein et la prostate (par voie endorectale). La problématique de base ici était l'épaisseur des tissus traversés (5 à 10 cm selon l'organe examiné). Assez naturellement,

nous avons opté pour un système résolu en temps, instrumentation plus complexe, afin de profiter de la richesse en matière de contenu informationnel du signal temporel. Ces travaux ont été conduits dans le cadre de deux thèses (Ducros, 2009; Laidevant, 2006), et de deux post-docs (N. Djaker et L. Guyon 2006-2007).

Avec la sophistication de la technique, se pose le problème de la complexité calculatoire et des temps de calculs qui peuvent devenir impraticables, malgré les progrès de l'informatique. Nous avons donc cherché des méthodes issues du traitement de l'information pour accélérer la résolution du problème direct, dans le cadre de la thèse de A. Frassati (Frassati, 2009) et l'exploitation des données dans le problème inverse dans la thèse de N. Ducros (Ducros, 2009).

Ce chapitre donne un aperçu de ces travaux.

## I. GEOMETRIE PLANAIRE

La géométrie d'acquisition la plus simple correspond, en général, à celle pour laquelle la solution du problème physique s'exprime à l'aide d'une solution analytique. C'est pourquoi, dans un premier temps, la géométrie plane a été retenue pour la conception du premier tomographe. Dans cette géométrie, l'objet (la souris) est plongé dans un milieu homogène ayant sensiblement les mêmes caractéristiques optiques que celui-ci (liquide d'adaptation d'indice, solution d'Intralipid® 1%). Le récipient doit être suffisamment grand dans les directions latérales pour permettre de négliger les effets de bord. D'un point de vue expérimental, on essaye de se ramener à un objet plan de largeur infinie et de propriétés optiques homogènes, éclairé par une source ponctuelle de puissance constante (mode continu, les mesures sont indépendantes du temps de vie des fluorophores).

Dès la fin de l'année 2003, un premier montage de tomographie optique relativement simple et modulable a été mis en place (Figure 39). L'objectif de ce montage était :

- de valider les hypothèses du modèle direct et réaliser une première boucle de reconstruction sur des fantômes calibrés ;
- de déterminer des paramètres tels que la puissance incidente nécessaire, la sensibilité de détection, les précisions de calibration nécessaires et les différents bruits.

J'ai implémenté un code de calcul développé sous Matlab® pour exploiter les données en mode continu. Cet outil permet de reconstruire la concentration volumique locale en fluorophores, dans un milieu diffusant et absorbant (la souris), à partir de données expérimentales prises en surface *via* une technique d'inversion standard (Algebraic Reconstruction Technique, ART). Il a été couplé à un modèle direct de calcul analytique en 3D, mais il a également été couplé avec succès à une méthode de résolution numérique (méthode des éléments finis).

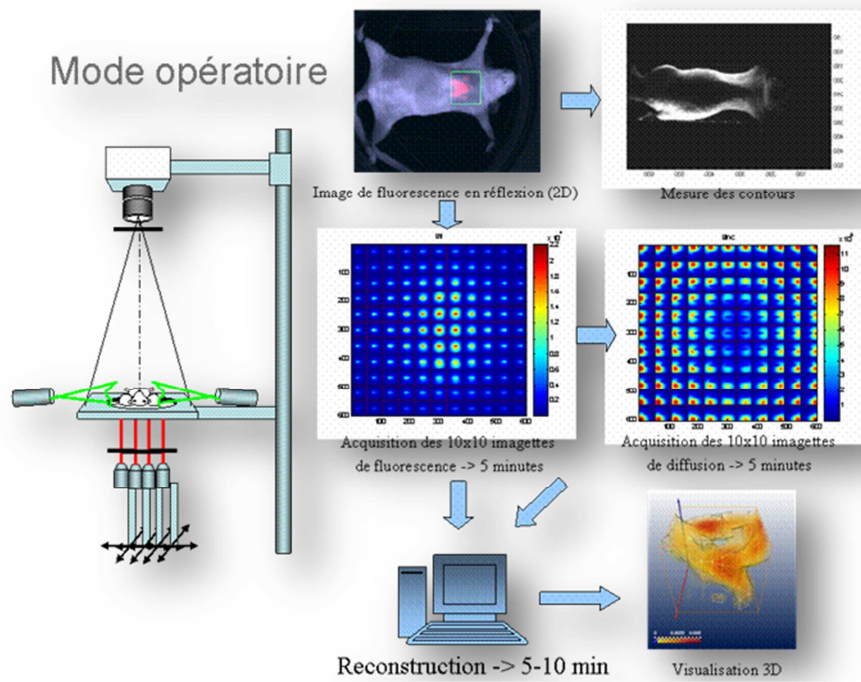


Figure 39: Dispositif expérimental, mode opératoire : la source d'excitation balaye le fond transparent du récipient. A chaque position de source une image de fluorescence et une image de diffusion sont enregistrées. Ces mesures sont introduites dans un algorithme de reconstruction d'images pour déterminer la biodistribution des marqueurs fluorescents.

Les développements se sont par la suite orientés selon deux axes principaux : la reconstruction d'une souris corps entier d'une part et hors « piscine » d'autre part, autrement dit sans liquide d'adaptation d'indices (Hervé et al., 2007c). En effet, l'utilisation d'un liquide d'adaptation d'indice, à l'origine introduite pour l'examen du sein, a été longtemps retenue dans la communauté pour les raisons précitées mais présente de nombreux désagrément, en particulier en matière de complexité de manipulation et de confort pour l'animal (nécessité de chauffer le liquide pour maintien à température).

La reconstruction d'une souris corps entier a nécessité en particulier de prendre en compte de fortes inhomogénéités (poumons, foie...) qui provoquent des variations d'atténuation importantes. V. Ntziachristos (Ntziachristos and Weissleder, 2001) propose d'atténuer les effets de l'inhomogénéité du milieu en normalisant la mesure du signal de fluorescence par le signal d'excitation, soit le signal mesuré dans les mêmes conditions à la longueur d'onde d'excitation. Cette approche porte le nom d'approximation de Born normalisée (*Normalized Born Approximation*). En pratique, les mesures en transillumination suivantes sont réalisées, pour chaque position de sources (Figure 40):

- mesure du signal d'excitation  $\phi_0^{\lambda_x}(\mathbf{r}_s, \mathbf{r}_d) = E_{\lambda_x} \Theta_s(\mathbf{r}_s) \Theta_d(\mathbf{r}_d) G(\lambda_x, |\mathbf{r}_s - \mathbf{r}_d|)$ , où  $\Theta_s(\mathbf{r}_s)$  représente le gain de chacune des sources,  $E_{\lambda_x}$  est l'efficacité quantique du détecteur à la longueur d'onde d'excitation  $\lambda_x$ ,  $\Theta_d(\mathbf{r}_d)$  représente le gain du détecteur, et  $G$  la mesure, réalisée dans des conditions idéales, du signal émis par une source ponctuelle placée en  $\mathbf{r}_s$  et mesurée en  $\mathbf{r}_d$  au travers d'un « slab » (fonction de Green en géométrie « slab »);

- positionnement du filtre de fluorescence devant la caméra pour la mesure du signal de fluorescence

$$\phi_m^{\lambda_m}(\mathbf{r}_s, \mathbf{r}_d) = E_{\lambda_m} \Theta_f \Theta_s(\mathbf{r}_s) \Theta_d(\mathbf{r}_d) \times \int G(\lambda_x, |\mathbf{r}_s - \mathbf{r}|) \beta(\mathbf{r}) G(\lambda_m, |\mathbf{r} - \mathbf{r}_d|) d\mathbf{r},$$

où  $\Theta_f$  représente la transmittance du filtre de fluorescence, et  $\beta(\mathbf{r})$  est la quantité que l'on souhaite reconstruire, proportionnelle à la concentration en molécules fluorescentes. En toute rigueur, il conviendrait d'effectuer des mesures spécifiques des coefficients de diffusion aux deux longueurs d'onde, mais compte-tenu de la proximité des longueurs d'onde  $\lambda_x$  et  $\lambda_m$ , et de la faible variation du facteur diffusion, l'hypothèse  $G_x \approx G_m$  est classiquement faite.

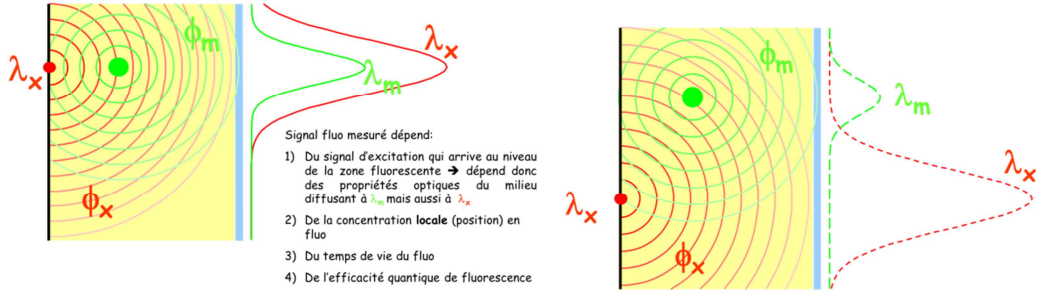


Figure 40: Schéma illustrant le principe physique et les notations.

De ces deux mesures, on en déduit la mesure de fluorescence normalisée :

$$\begin{aligned} \phi^{nb}(\mathbf{r}_s, \mathbf{r}_d) &= \frac{\phi_{fl}^{\lambda_m}(\mathbf{r}_s, \mathbf{r}_d)}{\phi_0^{\lambda_x}(\mathbf{r}_s, \mathbf{r}_d)} = \frac{E_{\lambda_m} \Theta_f \Theta_s(\mathbf{r}_s) \Theta_d(\mathbf{r}_d)}{E_{\lambda_x} \Theta_s(\mathbf{r}_s) \Theta_d(\mathbf{r}_d)} \times \frac{\int G(\lambda_x, |\mathbf{r}_s - \mathbf{r}|) \beta(\mathbf{r}) G(\lambda_m, |\mathbf{r} - \mathbf{r}_d|) d\mathbf{r}}{G(\lambda_x, |\mathbf{r}_s - \mathbf{r}_d|)} \\ &= \underbrace{\frac{E_{\lambda_m} \Theta_f}{E_{\lambda_x}}}_{\text{CALIBRATION}} \times \frac{\int G(\lambda_x, |\mathbf{r}_s - \mathbf{r}|) \beta(\mathbf{r}) G(\lambda_m, |\mathbf{r} - \mathbf{r}_d|) d\mathbf{r}}{G(\lambda_x, |\mathbf{r}_s - \mathbf{r}_d|)} \end{aligned}$$

Après calibrage expérimental, cette mesure permet d'accéder à la reconstruction du paramètre  $\beta(\mathbf{r}) = \eta(\mathbf{r}) \delta\mu_{af}(\mathbf{r}) = \eta(\mathbf{r}) \sigma(\mathbf{r}) C(\mathbf{r})$ , dépendant du rendement quantique  $\eta$  du fluorophore et de l'absorption locale des molécules fluorescentes  $\delta\mu_{af}$ , dépendant de la section efficace d'absorption  $\sigma$  de la molécule considérée, c'est deux paramètres sont mesurés *in vitro*.

*Remarque importante : en toute rigueur, ces deux paramètres,  $\eta$  et  $\sigma$ , dépendent intrinsèquement du milieu environnant dans lequel ils sont mesurés, et rendent même parfois compte de réactions biologiques locales (sensibles au pH par exemple). On comprend toute la difficulté d'obtenir une reconstruction quantitative, absolue, de la concentration.*

Cette expression devient, après discrétisation du volume en N voxels de volume  $\Delta v$ , et calcul des trois fonctions de Green, notées  $G_{sm}$ ,  $G_{md}$  et  $G_{sd}$  :

$$\phi^{nb}(\mathbf{r}_s, \mathbf{r}_d) = A \times \sum_{n=1}^N \frac{G_{sm}(\mathbf{r}_s, \mathbf{r}_n) G_{md}(\mathbf{r}_n, \mathbf{r}_d)}{G_{sd}(\mathbf{r}_s, \mathbf{r}_d)} \beta(\mathbf{r}_n) \Delta v \Leftrightarrow \phi_m^{nb} = \sum_{n=1}^N W_{mn} \beta_n \quad ; \quad m \in [1, M]$$

Nd=nombre de détecteurs ; Ns= nombre de sources ; M= nombre de mesures=Ns×Nd

Le schéma (Figure 41) ci-dessous donne une représentation matricielle du problème direct. La matrice « poids »  $W$  est ensuite inversée à l'aide d'un algorithme de reconstruction classique. La



méthode itérative ART (Algebraic Reconstruction Technique), avec des sophistications telles que le tirage aléatoires de mesures, le regroupement ou la pondération des mesures, est celle qui a été globalement utilisée. C'est une méthode facile à implémenter, souple d'utilisation et flexible.

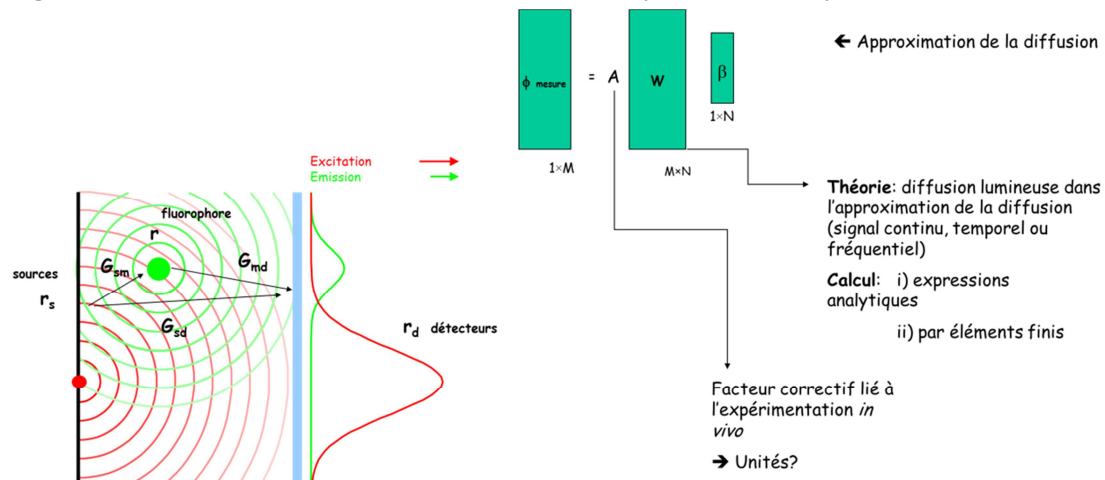


Figure 41: Schéma illustrant la formulation matricielle du problème direct et les notations.

L'approximation de Born normalisée permet d'estomper l'effet des inhomogénéités tout en conservant une approche semi-analytique pour la formulation du problème inverse. Cependant, elle a ses limites, notamment lorsque les variations de propriétés optiques sont trop fortes. C'est un problème auquel nous avons été particulièrement confrontés dans la mesure où l'organe cible était le poumon. La Figure 42 montre l'image d'une souris prise en lumière blanche et la mesure de signal diffus acquise en transillumination, avec un éclairage relativement homogène, la souris baignant dans un liquide d'adaptation d'indice (solution d'intralipid® 1%). On observe globalement deux zones : l'une relativement transparente, correspondant à la zone des viscères, et l'autre beaucoup plus atténuante, correspondant à l'endroit où se trouvent la plupart des organes vitaux (cœur, poumons).

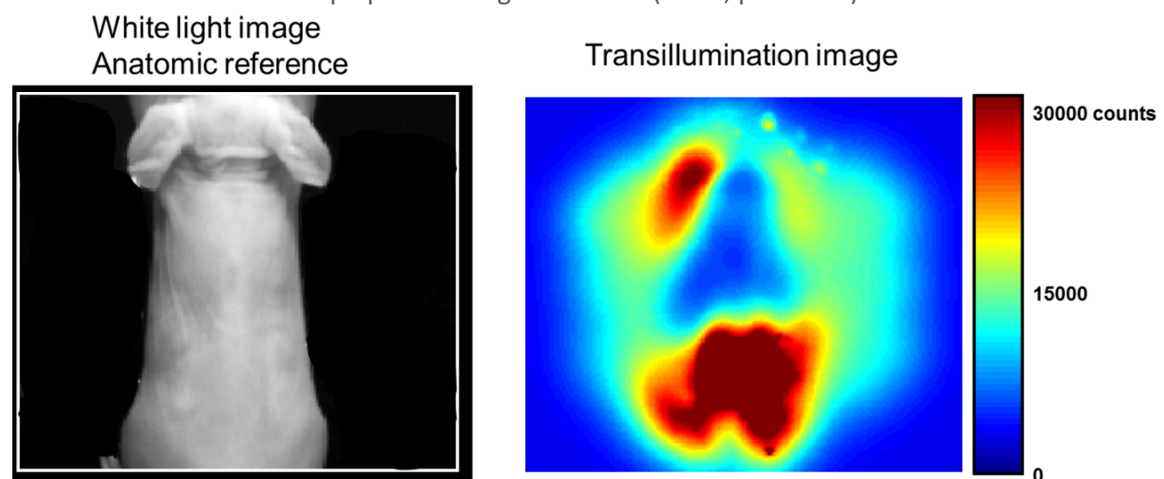


Figure 42: Gauche, image en lumière blanche d'une souris « nue ». Droite : image en transillumination (éclairage homogène) à 633 nm, de la même souris baignant dans un bain d'intralipid® 1%.

On comprend ici que l'hypothèse de faibles inhomogénéités est assez difficile à satisfaire. Pour aller vers une meilleure quantification, j'ai proposé une solution simple (Brevet II) permettant de prendre en compte, dans une certaine mesure, les inhomogénéités, tout en gardant la simplicité des calculs analytiques. L'idée est de se servir de la mesure du signal d'excitation pour en reconstruire une carte d'atténuation, qui prend globalement en compte les



écarts au modèle. Une mesure supplémentaire d'un signal d'excitation réalisée spécifiquement à la longueur d'onde de fluorescence est également réalisable sans grande modification du système de base.

La démarche est précisément décrite dans l'article (Hervé et al., 2007b) reproduit ci-après.

# Fluorescence tomography enhanced by taking into account the medium heterogeneity

Lionel Hervé\*, Anabela Da Silva, Anne Koenig, Jean-Marc Dinten, Jérôme Boutet, Michel Berger, Isabelle Texier, Philippe Peltié, Philippe Rizo

LETI-CEA Recherche Technologique 17 rue des Martyrs, 38054 Grenoble Cedex 9, France

Available online 7 November 2006

## Abstract

We present the results of a fluorescence tomography experiment showing that fluorescence tomography reconstruction requires a forward model corrected using the optical heterogeneities of the probed medium. We present the procedure we currently use to perform this reconstruction.

© 2006 Elsevier B.V. All rights reserved.

PACS: 87.57.-s; 02.30.Zz; 33.50.+d

Keywords: Optical tomography; 3D reconstruction; Fluorescence; Heterogeneities

## 1. Introduction

Fluorescence tomography modality is envisioned to be a cost effective method to obtain quantitative functional measurements and could benefit to the pharmacological industry for experiments on small animals. It consists of injecting cancer-specific fluorescence marker and reconstructing the fluorescence. This reconstruction can be used to quantify the cancer activity and evaluate the efficiency of treatments.

Currently, the technique is limited by the large heterogeneities of biological tissues, which create artifacts on the reconstruction and reduce the quality of the subsequent analysis. Here, we describe how we take these heterogeneities into account and show the efficiency of our method through a phantom experimental validation.

## 2. Material and methods

### 2.1. Tomograph

The experiment was performed with a tomograph described previously [1]. The optical system is composed

of a laser source (690 nm, 8 mW) for illumination and a CCD camera (Orca ER, Hamamatsu) for detection. The source is guided to the object via an optical fiber. The movements of the scanning fiber are driven by two translating plates (Microcontrol) and monitored by a computer. The CCD camera is focused at the top surface of the object. For each source position, two acquisitions of the transmitted light are done at the excitation and the fluorescence emission wavelengths by the use of a filter (high-pass RG9, Schott).

### 2.2. Phantom

Experiments on small animals are characterized by a wide dynamics on the detected excitation signal depending on the nature of the biological tissues. Therefore, we designed a solid phantom, which mimics small animal fluorescence tomography experiments to test our reconstruction method in presence of highly heterogeneous media (Fig. 1). It is composed of a mixture of epoxy resin (Solloplast), titanium dioxide powder (Sigma–Aldrich) as the scatterers, and black ink (Dalbe) as the absorber. The index of refraction is estimated to be 1.54, the reduced diffusion coefficient  $\mu'_s = 10 \text{ cm}^{-1}$ , and the absorption coefficient  $\mu_a = 0.2 \text{ cm}^{-1}$ . A hole was drilled (Fig. 1) to

\*Corresponding author.

E-mail address: [lionel.herve@cea.fr](mailto:lionel.herve@cea.fr) (L. Hervé).

introduce a fluorescent inclusion: a thin glass tube (external diameter: 3 mm, internal diameter: 1 mm, length: 3 cm) filled with commercial fluorescent dyes (Alexa750, 10  $\mu$ M, molecular probes), was introduced in the phantom at 3.5 mm from the ground surface. To interfere with the fluorescence emission, an 8 mm diameter wide hole was drilled above the fluorescence region. It was filled with a mixture of water, intralipid and ink to create a highly attenuated medium whose estimated characteristics are:  $\mu'_s = 10 \text{ cm}^{-1}$ ,  $\mu_a = 2.0 \text{ cm}^{-1}$ .

### 2.3. Acquisition parameters

In this experiment,  $10 \times 10$  different source positions, equally spaced, and separated by a distance of 2 mm are considered, corresponding to a rectangular field of view of approximately  $1.8 \times 1.8 \text{ cm}^2$ . CCD camera images of the phantom are resampled to create  $20 \times 20$  pixels images covering a  $2.1 \times 2.1 \text{ cm}^2$  field of view.

### 2.4. Light propagation

In highly scattering media and continuous sources, the diffusive wave obeys Helmholtz's equation

$$(\nabla^2 - k^2)\Phi(r) = -S(r) \quad (1)$$

where  $k^2 = 3\mu'_s$ ,  $\mu_a$  is the “optical heterogeneity”,  $S(r)$  the source term and  $\Phi(r)$  the photon density at position  $r$ .

By discretizing the volume on a simulation mesh and solving Eq. (1) for  $S(r) = \delta(r_1, r_2)$ ,

$$(\nabla^2 - k^2)G(r_1, r_2) = -\delta(r_1, r_2) \quad (2)$$

we can evaluate the Green's function  $G(r_1, r_2)$  on any couple of mesh nodes  $r_1$  and  $r_2$ . A  $23 \times 23 \times 17$  simulation mesh (for  $x$ ,  $y$  and  $z$  directions, respectively, corresponding to a resolution of  $2 \times 2 \times 1 \text{ mm}^3$ ) has been chosen to compute the  $G$  values. It is large enough to avoid border effects on the sources and detector's locations. Our method requires the computation of three series of Green's function values:  $G(r_s, r_m)$ ,  $G(r_m, r_d)$  and  $G(r_s, r_d)$ , where  $r_s$ ,  $r_d$  and  $r_m$  are, respectively, a laser source, a detector and a mesh node locations. Since sources and detectors are not necessarily on the mesh,  $G(r_1, r_2)$  is evaluated for the neighbor nodes

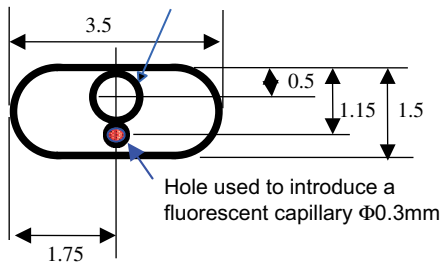


Fig. 1. Solid phantom used in the experiment. It consists of a homogeneous bulk, a hole at the bottom to introduce a fluorescent capillary and a large hole at the top to be filled with a very attenuating solution.

and the desired values are computed by linear interpolation. To compute  $G(r_m, r_d)$ , we also use the optical property  $G(r_m, r_d) = G(r_d, r_m)$ .

### 2.5. Fluorescence reconstructions

The fluorescence signal detected  $\Phi^f(r_s, r_d)$  by the detector element  $d$  for a laser excitation at location  $r_s$ , has a simple expression in terms of Green's functions [2,3]

$$\Phi^f(r_s, r_d) = \lambda \int G(r_s, r)X(r)G(r, r_d) dr \quad (3)$$

where  $X(r)$  is the fluorescence yield at position  $r$  and  $\lambda$  is a global factor, which includes the laser power, the detector efficiency and some geometrical constants. After discretization of the space (with  $r_m$  as nodes), Eq. (3) becomes

$$U_{sd}^f = \lambda \Delta V \sum_m W_{sd}^m X_m \quad (4)$$

where  $m$  is a mesh index,  $U_{sd}^f = \Phi^f(r_s, r_d)$ ,  $X_m = X(r_m)$ ,  $\Delta V$  is the volume element and  $W_{sd}^m = G(r_s, r_m)G(r_m, r_d)$ .

The reconstruction mesh is an extraction of the simulation mesh where some border pixels are excluded to form a  $13 \times 13 \times 15$  mesh.

Fluorescence reconstruction consists of inverting Eq. (4) to find  $X_m$  (we used 20 ART, algebraic reconstruction technique iterations with a relaxation parameter set to 0.1).

### 2.6. Attenuation reconstruction and Green's functions building-up

To build  $G$  functions compatible with the heterogeneous medium, we reconstruct  $k^2$  from the excitation signal. Let us consider the Rytov expansion between two systems ( $G, k^2$ ) and ( $G^0, (k^0)^2$ )

$$\log \left( \frac{U_{sd}^{\text{exc}} \times G^0(r_s, r_d)}{G(r_s, r_d) \times U_{sd}^{\text{exc}0}} \right) = - \int \frac{G(r_s, r)\Delta k^2(r)G(r, r_d)}{G(r_s, r_d)} dV \quad (5)$$

where  $U_{sd}^{\text{exc}}$  is the excitation signal detected for the source  $s$ , the detector  $d$  and  $\Delta k^2(r) = k^2(r) - (k^0)^2(r)$ . The formula uses a correction term  $G^0(r_s, r_d)/U_{sd}^{\text{exc}0}$  defined by an auxiliary reference experiment on a phantom of known characteristics.

By using a large number of source–detector couples (here, we used 50% of the couples with the highest  $G^0(r_s, r_d)$  values), Eq. (5) gives a linear system for unknown  $\Delta k^2(r_m)$  very similar to the system (Eq. (3)). However, as the  $G$  values are not known, we proceed iteratively as in the following:

- (1) take a homogeneous  $k^2$  map corresponding the physical values of the phantom bulk material ( $\mu'_s = 10 \text{ cm}^{-1}$ ,  $\mu_a = 2.0 \text{ cm}^{-1}$ ),
- (2) compute  $G$  values from Eq. (2) by using the current  $k^2$  map,

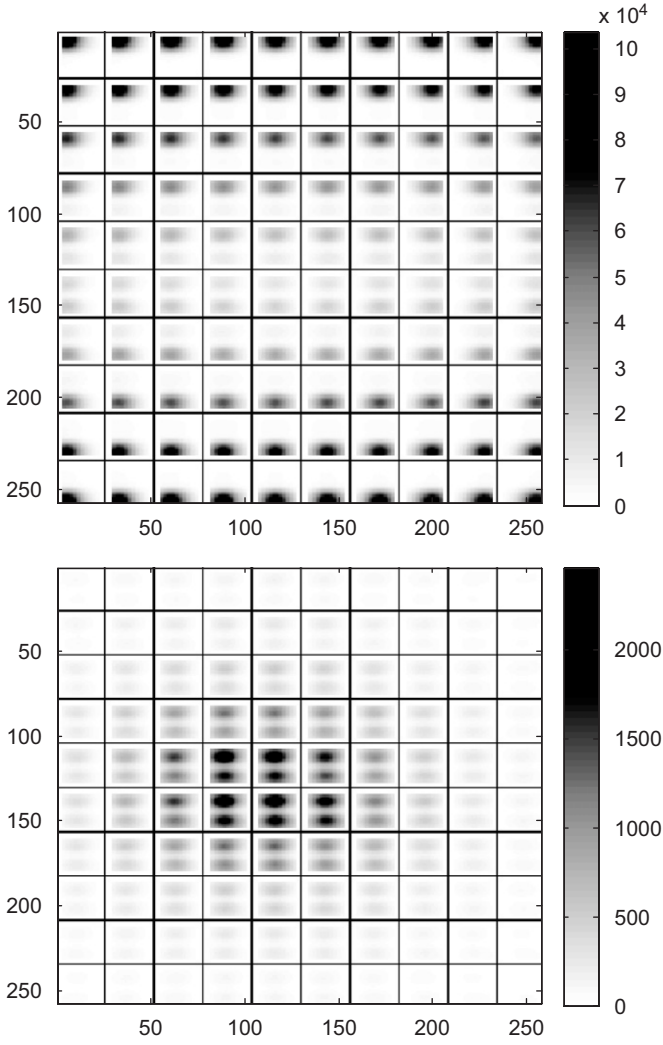


Fig. 2. Experimental images: excitation (top) and emission (bottom). Each small image corresponds to a source position.

- (3) reconstruct  $k^2$  from Eq. (5) by ART,
- (4) test the convergence by  $||\lambda G(r_s, r_d) - U_{sd}^{exc}||^2$  do 2–4 until convergence.

Empirically, for an ART relaxation parameter set to 0.01, eight iterations are sufficient to reach convergence.

### 3. Acquisitions

As described in Section 2.1, for each source position, two CCD acquisitions are performed in order to measure the excitation and emission signals. These images are shown in Fig. 2. We notice that almost no signal is detected on the

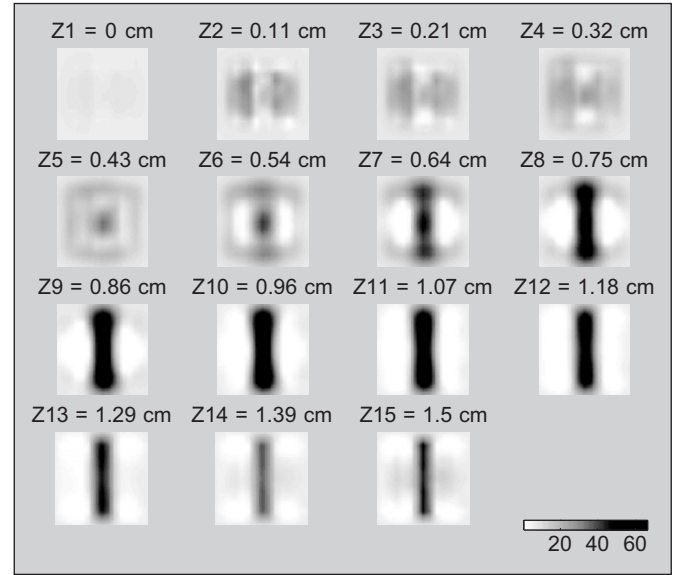


Fig. 4. Z slices of the reconstructed  $k^2$  map (top). Projection of this map along the attenuation axis (bottom). The circle represents the expected location of the high attenuation region.

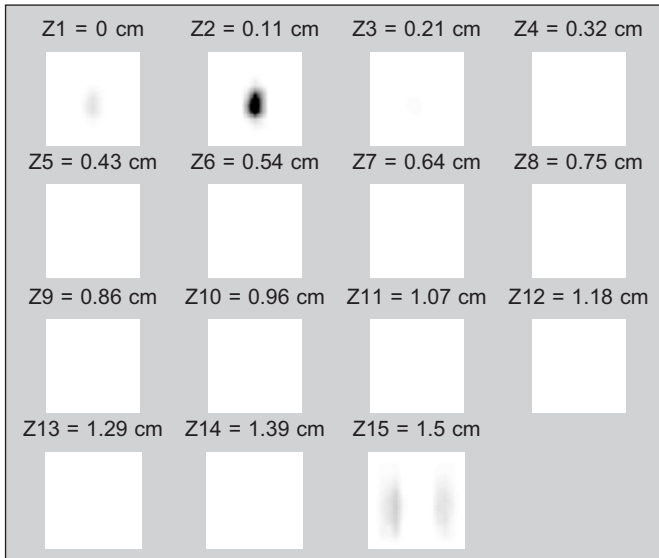


Fig. 3. Z slices of the reconstructed fluorescence when no correction is performed.

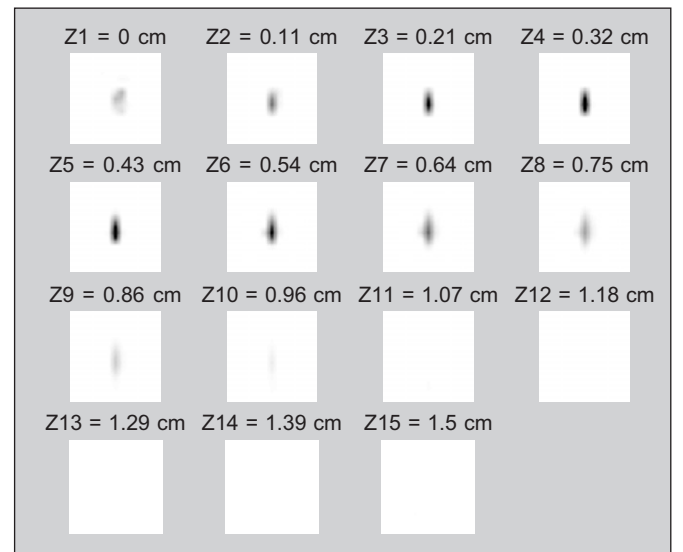


Fig. 5. Z slices of the fluorescence reconstruction when the  $G$  values are corrected from the medium heterogeneities.

central horizontal rows of the detector, because of the attenuating region at the top of the phantom. Note the large difference in dynamics between the excitation and emission signal (even with a 2-density used for the excitation acquisition).

#### 4. Results and conclusion

We present first a reconstruction performed without using the procedure described in Section 2.6 to insist on the necessity to take into account the medium heterogeneity. The fluorescence reconstruction results are displayed in Fig. 3. We notice that the main fluorescence is localized at the very bottom of the reconstruction mesh and a fluorescence artifact is present at the top of it ( $Z = 1.5$  cm). Then, the procedure described in section 2.6 is carried out. The reconstruction of  $k^2$  found is shown in Fig. 4. The high attenuation region is correctly located (mainly between 0.6 and 1.4 cm). Afterwards, as the  $G$  values are updated, we

perform the fluorescence reconstruction (Fig. 5). This time, the fluorescence results are satisfactory since the signal is located at the correct height (around 0.35 cm) and does not show any artifacts at the top of the reconstruction mesh.

In conclusion, to obtain accurate fDOT reconstructions, one must take into account the attenuation heterogeneities of the media. Moreover, we show that fluorescence reconstruction is feasible even when attenuating regions screen the fluorescence signal.

#### References

- [1] A. Da Silva, J. Boutet, A. Planat-Chrétien, J.-M. Dinten, A. Glière, Evaluation of a segmentation-based reconstruction scheme for fluorescence-enhanced diffuse optical tomography, in: Kai Licha, Rinaldo Cubeddu, (Eds.) Proceedings of the SPIE Photon Migration and Diffuse-Light Imaging II, vol. 5859, pp. 246–255.
- [2] M.S. Patterson, B.W. Pogue, Appl. Opt. 33 (1994) 1963.
- [3] M.A. O’Leary, D.A. Boas, X.D. Li, B. Chance, A.G. Yodh, Opt Lett. 21 (2) (1996) 158.

Le deuxième point essentiel était de s'affranchir du liquide d'adaptation d'indice. L'une des idées première développée par L. Hervé au LISA était de partir de la géométrie « slab » et de considérer les régions vides autour de la souris également comme une zone fortement atténuante comme correctif au modèle « slab » (Hervé et al., 2007a, 2007c). La figure ci-dessous montre l'apport de la prise en compte de l'inhomogénéité du milieu par rapport à l'approximation de Born normalisée seule.

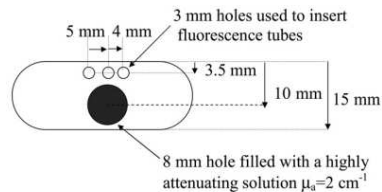


Fig. 7. Heterogeneous solid phantom used to validate reconstruction of the fluorescence yield in the presence of high attenuation.

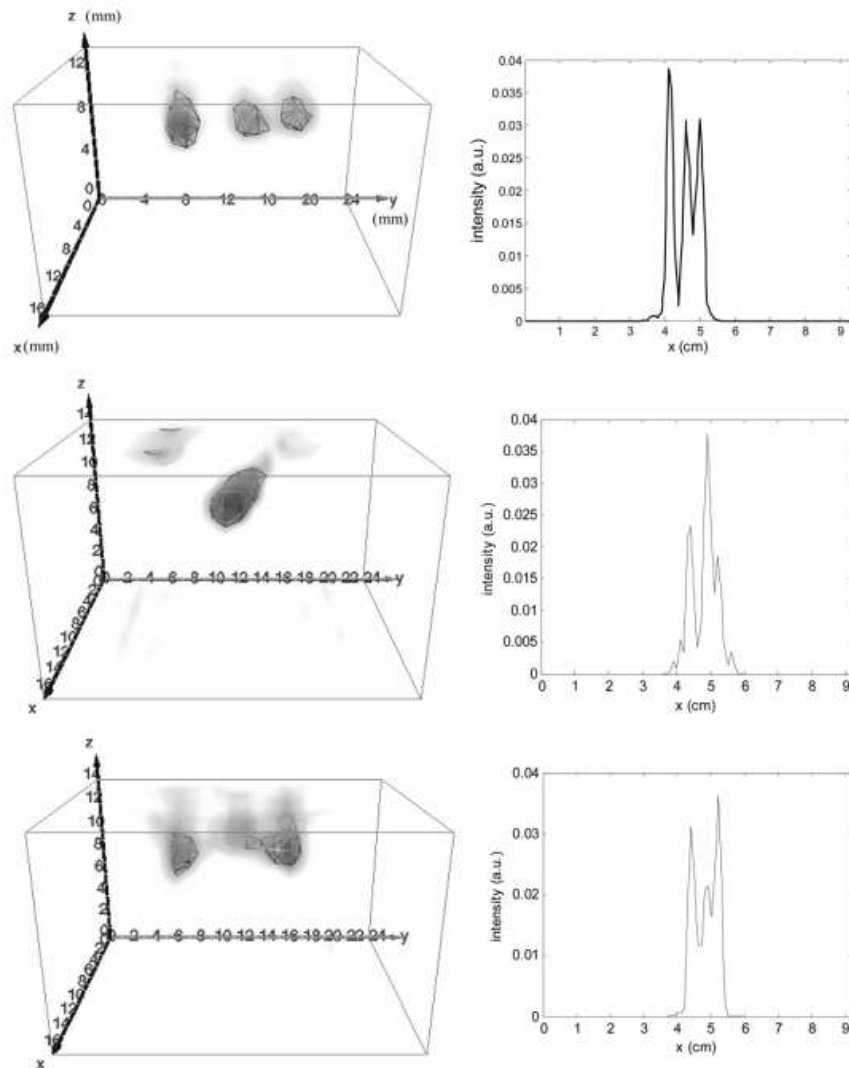


Fig. 8. 3D rendering (left) and y projection (right) of the reconstructed fluorescence yield of the heterogeneity phantom. (Top) Reconstruction of the heterogeneous solid phantom in the absence of high attenuation. The three fluorescence regions are well separated and positioned. (Middle) Reconstruction of the heterogeneous solid phantom in the presence of high attenuation using the Born ratio. The three fluorescence regions are not separated in the profile. The central fluorescence is overestimated and tends to merge with its nearest neighbor. The lateral fluorescence regions are underestimated and positioned too high. (Bottom) Reconstruction of the heterogeneous solid phantom in the presence of high attenuation using heterogeneity correction. The three fluorescence regions are separated and the positions of the three regions are correct, but the intensity of the central fluorophore is too low.

Figure 43: Extraits de (Hervé et al., 2007c)

La procédure de reconstruction analytique en géométrie « slab » a été testée et validée sur une série de fantômes formés de tubes capillaires (Koenig et al., 2008, 2007). Une série de manipulations a été effectuée sur 17 souris (4 souris saines et 13 malades à différents stades de développement de la tumeur implantée, 12 à 14 jours après implantation). Ces souris sont plongées dans un liquide d'adaptation d'indice pour se ramener à la géométrie « slab » pour laquelle la solution analytique est établie. Ces souris ont été imagées 3h après injection de 150 µg du fluorophore Transferrine/Alexa 750 (Figure 44).

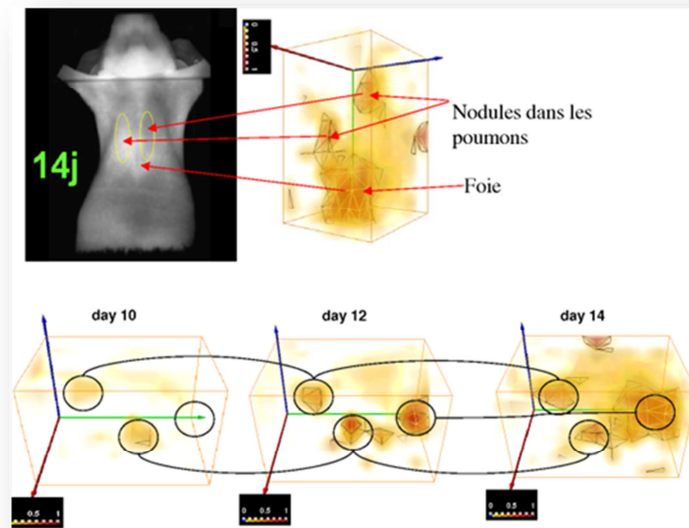


Figure 44: D'après (Koenig et al., 2007). Suivi longitudinal de la croissance d'une tumeur cancéreuse dans les poumons d'une souris « nude ».

Le développement de ce prototype a été réalisé, comme je l'ai dit, à l'aide d'un premier financement interne du CEA-LETI, RTB (Recherche Technologique de Base) IMO3D, puis de l'ANR-RNTS Tomo Fluo 3D (<http://le-fil-science.cea.fr/index.php/imagerie-moleculaire-du-rongeur-a-laide-de-la-tomographie-optique-de-diffusion>).

L'approche ainsi proposée est simple mais ne permet pas d'accéder complètement à une quantification absolue. On peut montrer explicitement ((Herve et al., 2011) et plus récemment (Correia et al., 2013a)) que le paramètre auquel on peut remonter est  $\frac{\beta(\mathbf{r})}{D_x(\mathbf{r})D_m(\mathbf{r})}$ , quantité

qui reste donc dépendante des propriétés optiques du milieu. Pour accéder à une quantification absolue, il faut faire appel à des techniques plus élaborées pour accéder à des informations supplémentaires telles que les techniques fréquentielles, résolues en temps ou en longueurs d'onde.

## II. GEOMETRIE CYLINDRIQUE POUR L'IMAGERIE BI-MODALITE

A partir de 2005, j'ai travaillé sur le couplage d'un dispositif de tomographie par rayons X à un système de tomographie optique de fluorescence pour le petit animal, ceci pour répondre aux besoins croissants pour l'imagerie multimodalité. Le couplage optique-rayons X offre la possibilité d'obtenir, *in vivo*, à la fois des informations anatomiques et fonctionnelles. De plus, les mesures de l'anatomie de l'animal peuvent être également utilisées comme information  $a$



*priori* pour contraindre les reconstructions, ce qui permet d'accélérer la résolution du problème inverse et d'obtenir des résultats quantitatifs plus précis.

La radiographie a été choisie en tant que modalité d'imagerie anatomique du fait de sa grande précision et de sa versatilité. La géométrie cylindrique a naturellement été choisie pour cet instrument car elle permet de faire cohabiter le système d'acquisition optique et X, de plus, dans cette configuration, une solution analytique du problème optique peut être développée et introduite dans un schéma de reconstruction.

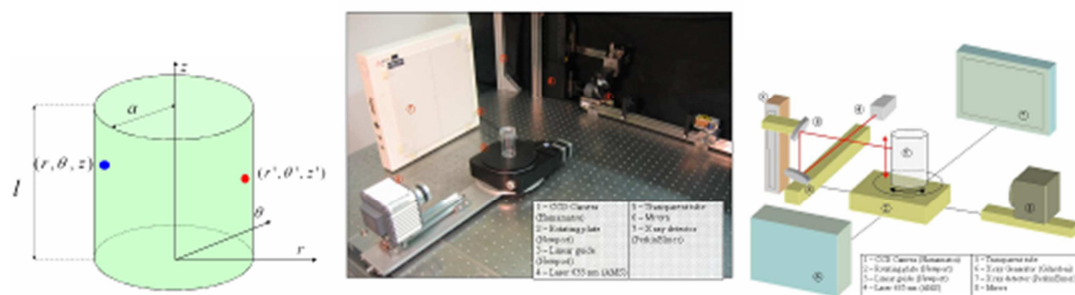


Figure 45: Schéma et notations utilisés (gauche), Photographie (centre) et schéma (droite) du système

Le système optique (Figure 45) est composé d'un laser pour l'excitation des fluorochromes, et d'une caméra CCD couplée à un filtre chromatique pour détection de la fluorescence. Le tube cylindrique destiné à recevoir l'animal est fixé sur une platine de rotation. Le faisceau incident est guidé vers le tube via deux miroirs montés sur des platines de translation, permettant ainsi un balayage vertical de la surface du tube. La chaîne d'acquisition X (générateur et détecteur) a été placée perpendiculairement à cette chaîne optique.

En procédant par analogie avec le problème de conduction de la chaleur dans les solides, nous avons établi (stage de C. Driol, Brevet I) une solution générale de l'équation de diffusion dans un milieu de forme cylindrique fini. Nous en avons ensuite déduit immédiatement la solution correspondant au signal de fluorescence. Cette formule est discrétisée et introduite dans l'algorithme de reconstruction itératif ART. Ces travaux ont été présentés (1<sup>er</sup> dispositif du genre) au congrès Society for Molecular Imaging, SMI à Cologne 2005 (Driol et al., 2005). L'aboutissement de ces travaux a été publié en 2009 (Da Silva et al., 2009). La Figure 46 présente un exemple de résultats obtenu avec cet instrument.

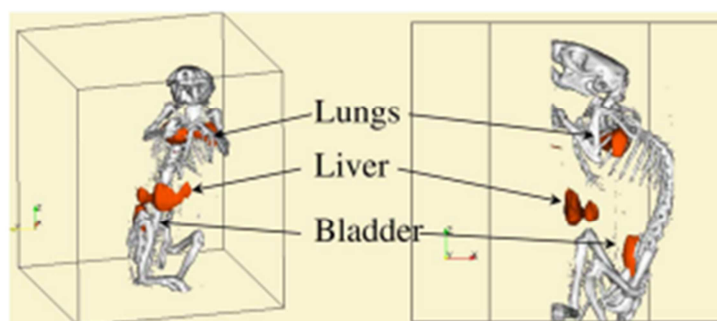


Fig. 13. (Color online) 3D view of the merging of the reconstructions obtained by x-ray tomography and by fluorescence optical tomography.

Figure 46 : Extrait de (Da Silva et al., 2009) Souris « nude » présentant des métastases dans les poumons (tumeurs mammaires TSA PC implantées dans le poumon). Couplage des informations anatomiques et fonctionnelles

La démarche et l'instrument sont décrits dans l'article (da Silva et al., 2007) reproduit ci-après.





# Design of a small animal multimodality tomographer for X-ray and optical coupling: Theory and experiments

A. da Silva\*, M. Leabad, T. Bordy, J.-M. Dinten, Ph. Peltié, Ph. Rizo

*LETI-CEA Recherche Technologique, 17 rue des Martyrs, 38054 Grenoble Cedex 9, France*

Available online 3 November 2006

## Abstract

A small animal tomographer dedicated to co-registration of fluorescence optical signal and X-rays measurements is under development. An exact analytical solution to the diffusion equation used for modeling the optical forward problem has been established. © 2006 Elsevier B.V. All rights reserved.

*PACS:* 87.57.-s; 87.57.Gg; 87.59.Fm; 42.30

*Keywords:* Photon migration; Image reconstruction techniques; Medical and biological imaging

## 1. Introduction

In the last few years, numerous groups [1,2] have validated the potential of near-infrared fluorescence-enhanced Diffuse Optical Tomography (fDOT) as a mean for image reconstruction of the bio-distribution of fluorescent markers. By tagging regions of interest with target-specific fluorescing molecular probes, this technique enables estimation of three-dimensional (3D) locations and geometries of targeted areas, such as tumors. In order to complete and to get the best benefit of small animal examinations, there is an increasing need of multimodality imaging instruments. The purpose of such systems is to offer the possibility to get, in vivo, both anatomical and functional information. Moreover, anatomical measurements can also be used as a regularization factor in order to get the reconstructions of the biodistribution of the fluorochromes more accurate and to speed up the computation.

X-rays radiography has been chosen as the high-resolution imaging modality because of the accuracy of the anatomical information it provides and its versatility. Fig. 1 shows how radiographic measurements can provide,

throughout dual energy processing, accurate information on mice skeleton.

Moreover, X-rays can provide 3D anatomical information through Computed Tomography (CT).

This paper is dedicated to the presentation of the optical imaging system. The cylindrical geometry has been naturally chosen as a compromise: (i) this geometry is suitable with X-rays cone beam CT of the whole animal body; (ii) by immersing the animal in an index matching fluid, an analytical solution to the optical forward problem can be derived and introduced in a reconstruction scheme.

Section 2 is devoted to the description of the model used for the resolution of the forward problem, and the general principle of the reconstruction technique (inverse problem). Then details on the instrumentation and on phantom experiments are provided. Finally, we conclude.

## 2. Description of the model

A finite cylinder with radius  $a$  and height  $l$  (Fig. 2) is considered. Its absorption coefficient is supposed to be  $\mu_a$  and diffusion coefficient  $D$ . An exact analytical solution to the diffusion equation used for modeling the optical forward problem has been established. According to the recommendations found in Ref. [3], and, by analogy with the problem of conduction of heat in solids [4,5], an analytical solution to the diffusion equation, for a finite

\*Corresponding author. Tel.: +33 4 38 78 24 11; fax: +33 4 38 78 57 87.  
E-mail address: [anabela.dasilva@cea.fr](mailto:anabela.dasilva@cea.fr) (A. da Silva).

cylindrical diffusing medium illuminated by an isotropic point-like source, has been established:

$$G_{\text{cyl}}(\lambda, \mathbf{r}, \mathbf{r}') = \frac{1}{Dl\pi} \sum_{m=1}^{\infty} \sin \frac{m\pi z}{l} \sin \frac{m\pi z'}{l} \\ \times \sum_{n=-\infty}^{\infty} \frac{I_n(\mathbf{r}q_m)}{I_n(aq_m)} [I_n(aq_m)K_n(\mathbf{r}'q_m) \\ - K_n(aq_m)I_n(\mathbf{r}'q_m)] \\ \times \cos n(\theta - \theta')$$

with  $\lambda$ , the wavelength,  $q_m = \sqrt{k_0^2 + m^2\pi^2/l^2}$  and  $k_0^2 = \mu_a/D + i\omega/c_n D$ ,  $K_n$  and  $I_n$  are, respectively, the first and second kind modified Bessel functions of  $n$ th order. The solution for the fluorescence signal can then be expressed, in continuous wave mode, as follows:

$$\phi^{\text{fl}}(\mathbf{r}_s, \mathbf{r}_d) \propto \int_{\text{Volume}} G_{\text{cyl}}(\lambda_1, \mathbf{r}_s, \mathbf{r}) \beta(\mathbf{r}) G_{\text{cyl}}(\lambda_2, \mathbf{r}, \mathbf{r}_d) d\mathbf{r},$$

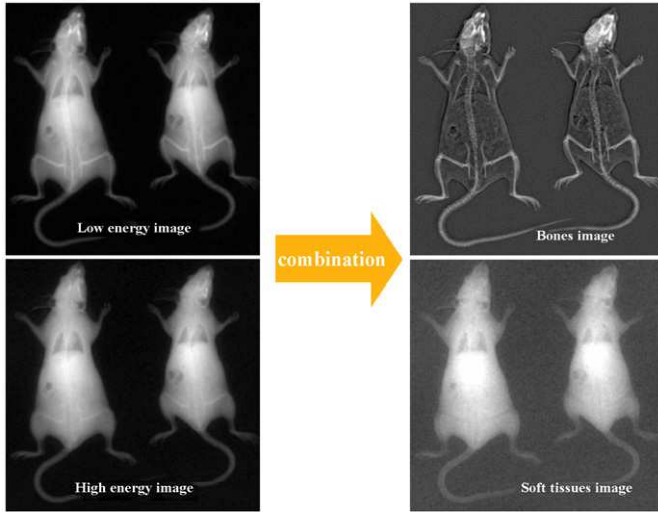


Fig. 1. Radiography of a mouse: a combination of high and low energy X-ray images (left) allows the recovery of both the skeleton (bones image) and soft tissues (right).

$\mathbf{r}_s$  and  $\mathbf{r}_d$  are the positions of, respectively, the source and the detector,  $\beta$  is the conversion factor at a point  $\mathbf{r}$  of the excitation light, propagating with the wavelength  $\lambda_1$ , into fluorescence light, propagating with the wavelength  $\lambda_2$ . The volume of the cylinder is then meshed into a limited number of voxels and the problem becomes a matrix inversion problem solved by a classical reconstruction algorithm (the Algebraic Reconstruction Technique has been chosen [6]).

### 3. Experiments

The optical system (Fig. 2) is basically composed with a laser beam for excitation of the fluorochromes, and a CCD camera coupled with a chromatic filter for the fluorescence detection. The animal is placed inside a transparent tube filled with an index matching fluid. In order to perform multiple views of fluorescence data acquisitions, the cylinder is fixed to a rotating stage. The excitation beam is brought to the cylinder via two mirrors mounted on translation plates allowing alignment and a translation vertical scan. The optical data acquisitions are performed with a high-sensitivity CCD camera (Hamamatsu). In complement to the optical system, a X-ray generator and a X-ray detector have been placed perpendicularly to the optical chain.

Recent experiments have been performed on a phantom consisting of a cylindrical transparent plastic tube ( $\varnothing \sim 3.2$  cm, Fig. 3), filled with intralipid 0.5% (corresponding to a reduced scattering coefficient  $\mu'_s \sim 6 \text{ cm}^{-1}$ ) and India Black ink for absorption ( $\mu_a \sim 0.1 \text{ cm}^{-1}$ ). Two thin tubes ( $\varnothing \sim 1$  mm), have been filled with various concentrations (from 10 to 1  $\mu\text{M}$ ) of Alexa-Fluor 750 fluorochromes.

For this experiment, 120 different sources positions have been considered (10 different rotation angles and 12 vertical translations). An image of one fluorescent data acquisition is presented on Fig. 3b.

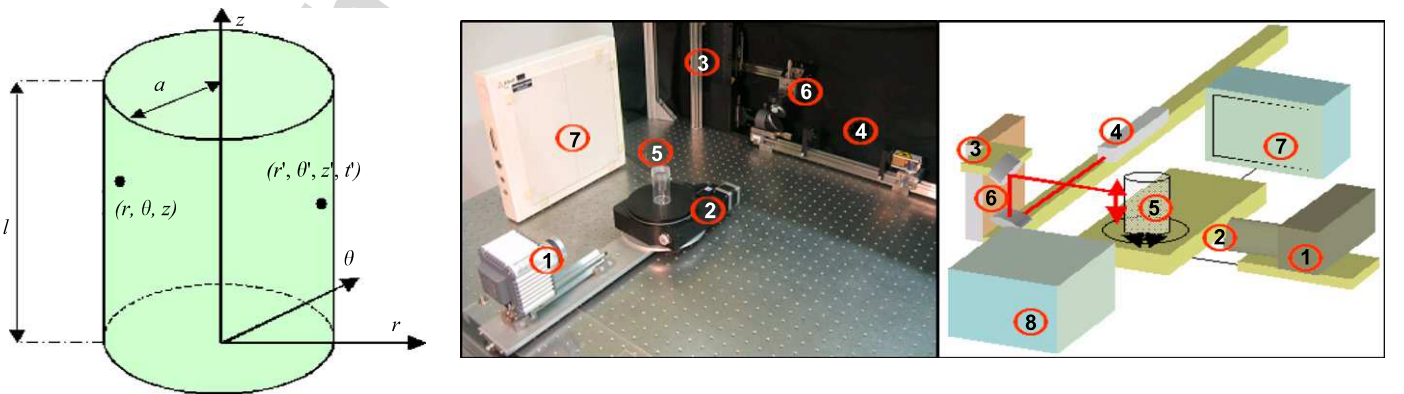


Fig. 2. Schematic and notations used (left), Photograph (center) and schematic (right) of the experimental setup. ① CCD Camera (Hamamatsu); ② Rotating plate (Newport); ③ Linear guide (Newport); ④ Laser 635 nm (AMS); ⑤ Transparent tube; ⑥ Mirrors; ⑦ X-ray detector (PerkinElmer); ⑧ X-ray Generator (Gilardoni).

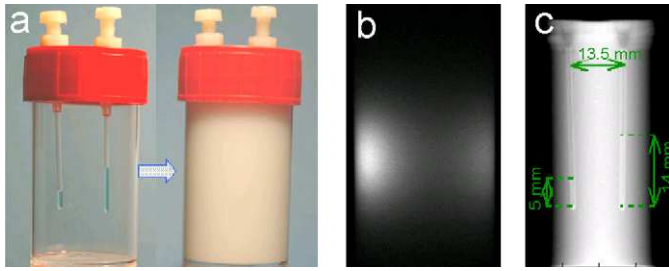


Fig. 3. (a) Cylindrical phantom without (left) and with (right) diffusing medium; (b) fluorescence signal collected through the chromatic filter via the CCD camera, for a given source position and (c) X-ray attenuation slice of the phantom at 0°.

Data reconstructions need an accurate spatial localization of the sources and the detectors. Shifts of the cylinder during its rotation and deformations introduced by the optical system have to be measured and taken into account. Geometrical and optical calibrations techniques have been developed in order (i) to obtain an automatic extraction of the axis of the tube at any rotation angle; (ii) to determine the non-constant optical magnification map of the image.

A total of 180 X-ray radiographies (Fig. 4a) of the phantom are used for the reconstruction (Feldkamp algorithm [7]). The resolution obtained is 0.3 mm. From

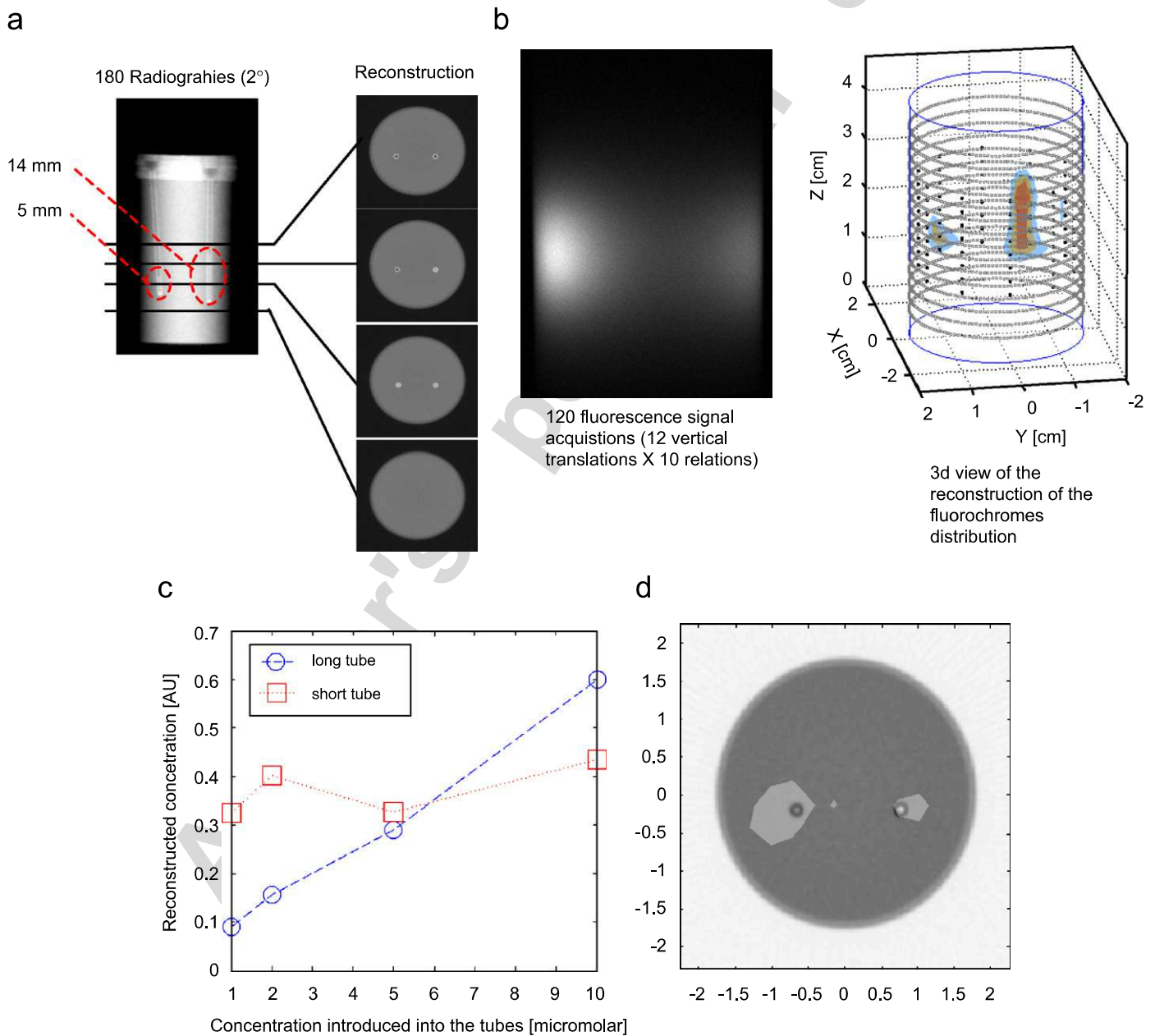


Fig. 4. (a) Radiography and reconstruction; (b) fluorescence signal and optical reconstruction; (c) reconstructed concentrations [AU] as a function of the actual concentrations; and (d) superimposition of both reconstructions.

the density map, multiple geometric parameters can then be extracted such as approached volumes of Alexa 750 fluorochromes, distances between objects.

A serie of acquisitions has been performed for which the volume of fluorochromes inside the tubes is kept unchanged. An example of reconstruction of the conversion factor  $\beta$  is represented on Fig. 4b. In order to test at once the reproducibility of the results and the linearity of the system, the concentration of the smaller fluorescent object is kept unchanged (10  $\mu$ M) while the concentration of the other one is varied from 10 to 1  $\mu$ M (Fig. 4c). On Fig. 4d are superimposed the reconstructions of both optical and X-ray imaging modalities.

#### 4. Conclusion

An instrument, dedicated to coregistration of optical and X-ray measurements, has been developed. The optical reconstruction chain is currently under evaluation: the first reconstructions obtained on both synthetic and experimental data are satisfying. They show both linearity and reproducibility of the experiments. In our future work, the anatomical information brought by the X-ray data will be

exploited and introduced as a regularization factor in the reconstruction scheme.

#### Acknowledgment

Animal experiments have been conducted in collaboration with Dr. J.-L. Coll's group, Animage, GRCP, INSERM U578, Institut Albert Bonniot, Grenoble, France.

#### References

- [1] A. Godavarty, M.J. Eppstein, C. Zhang, A.B. Thomson, M. Gurfinkel, S. Theru, E.M. Sevick-Muraca, *Phys. Med. Biol.* 48 (12) (2003) 1701.
- [2] V. Ntziachristos, E.A. Schellenberger, J. Ripoll, D. Yessayan, E. Graves, A. Bogdanov, L. Josephson, R. Weissleder, *Proc. Natl. Acad. Sci.* 101 (33) (2004) 12294.
- [3] S.R. Arridge, M. Cope, D.T. Delpy, *Phys. Med. Biol.* 37 (7) (1992).
- [4] H.S. Carslaw, J.C. Jaeger, *Conduction of Heat in Solids*, Clarendon Press, Oxford, 1959 (Chapter 14).
- [5] H.S. Carslaw, J.C. Jaeger, *J. London Math. Soc.* (1940).
- [6] A.C. Kak, M. Slanley, *Principles of Computerized Tomographic Imaging*, IEEE Press, New York, 1988.
- [7] L.A. Feldkamp, L.C. Davis, J.W. Kress, *J. Opt. Soc. Am. A* 1 (6) (1984).

Les travaux entrepris sur le tomographe bimodalité X-optique ont aujourd'hui une reconnaissance internationale. Ils ont été poursuivis dans le cadre de deux collaborations plus élargies, que j'ai contribué à mettre en place et auxquelles j'ai pu participer avant mon départ pour le CNRS en 2008: ces travaux se sont en effet poursuivis dans le cadre du programme européen FMT-XCT (financement FP7-HEALTH-2007-A), ainsi que dans le cadre d'un partenariat industriel avec la société suisse Scanco (<http://le-fil-science.cea.fr/index.php/tomofluo3d-un-systeme-de-tomographie-optique-preclinique-quantitatif>).

### III. GEOMETRIE QUELCONQUE : METHODES NUMERIQUES POUR LA TOMOGRAPHIE OPTIQUE DIFFUSE DE FLUORESCENCE

L'approche analytique a bien évidemment ses limites et traiter le cas général suppose quasi-inévitablement une résolution numérique. La méthode des éléments finis (MEF) est la méthode la plus générale et la plus flexible pour traiter ce type de problème de diffusion sur une géométrie modérément chahutée, avec des variations de propriétés optiques qui peuvent être très fortes. Le développement de la méthode s'est fait sur la base d'un programme utilisant les logiciels commerciaux Matlab® et Comsol®. La méthode des variables adjointes (Fedele et al., 2003) (Arridge, 1999) est ici utilisée pour résoudre efficacement le problème direct. Elle permet notamment de réduire le nombre de systèmes d'équations à résoudre par la MEF. J'ai mis en place un schéma de reconstruction « multi-étapes », robuste et auto-régularisé grâce à l'utilisation d'une étape de segmentation de reconstructions intermédiaires. L'optimisation poussée des codes de calculs a permis de réduire considérablement le temps de calculs qui est passé d'une durée classique de deux heures à environ trente minutes. Ces efforts ont été poursuivis dans le cadre de la thèse de A. Frassati (Frassati, 2009).

L'approche est entièrement décrite dans l'article non-publié reproduit ci-après.





# Fluorescence-enhanced Diffuse Optical Tomography Reconstruction Scheme based on Sequential Image Segmentations

A. Da Silva, A. Planat-Chrétien, J. Boutet, L. Hervé, J.-M. Dinten, A. Glière

**Abstract—** In this paper, the focus is made on three-dimensional shape-based imaging methods and their application to small animal imaging by fluorescence-enhanced Diffuse Optical Tomography. Because of the complexity of the geometry of the studied systems, a numerical approach, using for instance the Finite Element Method, is required, but is known to be time- and memory-consuming. A coupled resolution of the forward and adjoint problems considerably speeds up the process and allows a full 3D resolution. In order to regularize the ill-posed reconstruction problem, a multiple step, self-regularized, reconstruction algorithm for the spatial distribution of the fluorescent regions is introduced. The prior knowledge of compactness of the regions of interest is introduced via a filtered segmentation of the results performed with a first rough reconstruction. The results are then refined along iterations of the segmentation/reconstruction scheme.

**Index Terms—** Diffusion equations, Finite element methods, Fluorescence, Optical tomography.

## I. INTRODUCTION

In the last few years, there has been increasing interest in the potential of near-infrared fluorescence tomography as a means for molecularly based non-invasive imaging in biological tissues. By tagging regions of interest with target-specific fluorescing molecular probes, fluorescence-enhanced Diffuse Optical Tomography (fDOT) enables estimation of three-dimensional (3D) locations and geometries of targeted areas such as tumors and can potentially be a quantitative imaging modality. A variety of these new “smart” probes are currently under investigation [1], and the development of NIR-excitable dyes for diagnostic and imaging continues in a number of laboratories. Numerous groups have demonstrated image reconstruction from phantom [2] and *in vivo* experimental data [3].

fDOT requires both an accurate forward model of coupled excitation and emission light propagation through highly scattering media and a robust method for inverting emission measurements and reconstructing interior optical property

maps of the tissues and, *in fine*, the fluorochromes local concentration. Two concurrent approaches are currently under investigation for solving the forward problem. The first one refers to a simplified formulation in order to establish analytical solutions and is particularly interesting for treating large number of unknowns problem. Nevertheless, its application is usually restricted to simplified geometries such as semi-infinite media, slabs or cylinders. Some attempts to apply it to realistic geometries have recently been carried out [4], with the restrictive hypothesis of a homogeneous scattering and absorbing medium. The numerical resolution of the diffusion equation, by the Finite Element Method (FEM), has no restriction considering the geometry or homogeneity of the system, but is well-known to be time and memory consuming. Recently, Eppstein *et al.* [5-6] and Sevik-Muraca *et al.* [7], proposed an interesting implementation that expresses the solution in terms of Green’s matrices, allowing a complete linearization of the problem. This approach is appropriate for handling problems modelled by elliptic coupled partial differential equations. The resolution of the adjoint problem considerably speeds up the treatment and allows a full 3D resolution. Nevertheless, because of the ill-posedness of the problem, the reconstruction scheme is sensitive to *a priori* knowledge on the parameters to be reconstructed. In the present work, we focus on properly recovering the distribution of the fluorochromes, that is both localization and quantification. A multiple step, self-regularized, reconstruction algorithm for the spatial distribution of the fluorescent regions is presented. The prior knowledge of the regions of interest is introduced via a filtered segmentation into compact fluorescent components. The latter is performed on the results obtained with a first rough reconstruction. The results are then refined along iterations of the segmentation/reconstruction scheme.

In the following section, the equations governing propagation of the fluorescent signal through diffusive media and the principle of the reconstruction are recalled. Our multiple steps approach is then detailed by following the calculation through a simple 2D example. The technique is then tested on experiments performed with a homemade tomographer. A phantom study is presented. Finally, we discuss the results and conclude.

<sup>Manuscript received October 14, 2005. A. Da Silva (corresponding author: (33) 4 38 78 24 11; fax: (33) 4 38 78 57 87; e-mail: anabela.dasilva@cea.fr), A. Planat-Chrétien, J.-M. Dinten and A. Glière are with LETI-CEA Recherche Technologique, 17 rue des Martyrs F-38054 Grenoble Cedex 9, France.</sup>



## II. DESCRIPTION OF THE MODELS

In this section, we briefly recall the basic equations governing light propagation through diffusive media. The discussion is restricted to the frequency domain although the results may be readily applied to the time-domain, by taking into account the time evolution in the equations or *via* Fourier transforms of the results. Some details on the FEM implementation chosen to solve the problem are also provided. A complete description of the forward model can be found in Ref. 6.

### A. General Formulation of the Forward Problem

Suppose a diffusive medium with total volume  $\Omega$ , and bounded by the surface  $\partial\Omega$ . Suppose an intensity-modulated point source located at the position  $\mathbf{r}_s$  inside the diffusive medium with intensity  $Q_0(\mathbf{r}_s)$  and frequency  $\omega$ . The fluorochromes present within the medium are excited by the incident Diffuse Photon Density Wave (DPDW)  $\varphi_x$  at the excitation wavelength  $\lambda_x$ . Each excited fluorescent particule then acts as a secondary point source and gives birth to a fluorescent DPDW, propagating with a larger wavelength  $\lambda_m$ . The propagation of light through highly scattering media is commonly modeled, within the Diffusion Approximation, by the following set of weakly coupled PDEs:

$$\begin{cases} \nabla \cdot (-D_x(\mathbf{r}) \nabla \varphi_x(\mathbf{r}, \mathbf{r}_s)) + k_x(\mathbf{r}) \varphi_x(\mathbf{r}, \mathbf{r}_s) = Q_0(\mathbf{r}_s) \\ \nabla \cdot (-D_m(\mathbf{r}) \nabla \varphi_m(\mathbf{r}, \mathbf{r}_s)) + k_m(\mathbf{r}) \varphi_m(\mathbf{r}, \mathbf{r}_s) = \beta(\mathbf{r}) \varphi_x(\mathbf{r}, \mathbf{r}_s) \end{cases} \quad (1)$$

The first equation represents the propagation of excitation light (subscript  $x$ ), from the point-like source, located at position  $\mathbf{r}_s$ , to the fluorochrome at a position  $\mathbf{r}$  inside the diffusive volume  $\Omega$ . The second models the generation and propagation of the emitted light (subscript  $m$ ). The coefficients  $k_u$  ( $u=[x,m]$ ) are the total complex absorption at the wavelength  $\lambda_u$ :  $k_u(\mathbf{r}) = \mu_{\text{aut}}(\mathbf{r}) + \mu_{\text{af}}(\mathbf{r}) + i\omega/c$ ,  $c$  is the speed of light inside the medium,  $\mu_{\text{aut}}$  is the absorption coefficient proportional to the local chromophores concentration, while  $\mu_{\text{af}}$  is the absorption coefficient due to the local fluorochromes concentration.  $D_u$  is the diffusion coefficient. The parameter  $\beta$  involved in the fluorescence source term is the conversion factor of the excitation light at a point  $\mathbf{r}$  into fluorescence light and defined as  $\beta(\mathbf{r}) = \eta \mu_{\text{af}}(\mathbf{r}) / [1 - i\omega\tau]$ . The fluorescence life-time  $\tau$  and quantum yield  $\eta$  characterizes the nature of the fluorochrome itself in its environment. Hence, this parameter is precisely the parameter to be recovered by reconstruction. In so far as this parameter is directly proportional to the local concentration, it allows the recollection of the position of the fluorochromes as well as the quantification.

These equations are subject to the Robin boundary conditions, to be verified at all the system boundaries  $\partial\Omega$ :

$$\begin{cases} \mathbf{n} \cdot (D_x(\mathbf{r}) \nabla \varphi_x(\mathbf{r}, \mathbf{r}_s)) + \zeta_x \varphi_x(\mathbf{r}, \mathbf{r}_s) = 0 \quad \forall \mathbf{r} \in \partial\Omega \\ \mathbf{n} \cdot (D_m(\mathbf{r}) \nabla \varphi_m(\mathbf{r}, \mathbf{r}_s)) + \zeta_m \varphi_m(\mathbf{r}, \mathbf{r}_s) = 0 \end{cases} \quad (2)$$

$\mathbf{n}$  is the outward normal unitary vector to the surface,  $\zeta_u$  is a multiplicative factor, self-consistently accounting for index mismatching at the boundaries and depending on the Fresnel reflection coefficients [8]. The physical quantity representing the actual measurement is the output flux, or exitance [ $\text{W/m}^2$ ], proportional to the DPDW according to Eq. (2), measured at the boundary of the diffusive medium:

$$\Gamma_m(\mathbf{r}, \omega) = -D_m(\mathbf{r}) \mathbf{n} \cdot \nabla \varphi_m(\mathbf{r}, \omega) = \zeta_m \varphi_m(\mathbf{r}, \omega) \quad \forall \mathbf{r} \in \partial\Omega \quad (3)$$

### B. Perturbation approach

Within the framework of fDOT, the quantities to be reconstructed can be i) the parameters related to the surrounding medium,  $D_m, D_x, k_m, k_x$  (for simplicity,  $\zeta_m, \zeta_x$  are supposed to be known); ii) the parameter related to the fluorochromes  $\beta$ . Most of reconstruction techniques within the Diffusion Approximation rely on a first order perturbation approach, that is the measured DPDW  $\varphi_u$  ( $u=[x,m]$ ) is decomposed into a Taylor series truncated at first order:  $\varphi_u + \delta\varphi_u$ . The deviation  $\delta\varphi_u$  to the initial estimate has to be small and is supposed to be only due to a deviation on the estimation of all or part of the parameters to be reconstructed  $\{D_x + \delta D_x, D_m + \delta D_m, k_x + \delta k_x, k_m + \delta k_m, \beta + \delta\beta\}$ . This implies solving the forward problem (1), once for the presupposed set of parameters in order to find the reference solution  $\{\varphi_x, \varphi_m\}$ , and the following system, for the evaluation of the errors  $\{\delta\varphi_x, \delta\varphi_m\}$ :

$$\begin{cases} \nabla \cdot (-D_x \nabla \delta\varphi_x) + k_x \delta\varphi_x = [\nabla \cdot (\delta D_x \nabla \varphi_x) - \delta k_x \varphi_x] \\ \nabla \cdot (-D_m \nabla \delta\varphi_m) + k_m \delta\varphi_m - \beta \delta\varphi_x = [\nabla \cdot (\delta D_m \nabla \varphi_m) - \delta k_m \varphi_m + \delta\beta \varphi_x] \end{cases} \quad (4)$$

This system of equations, introduced in a reconstruction algorithm, has to be solved each time the residuals  $\{\delta D_x, \delta D_m, \delta k_x, \delta k_m, \delta\beta\}$  are updated, leading to intractable computing time and memory.

### C. Resolution of the Adjoint Problem

The Adjoint Method [9] has been widely used in other domains of sciences [10] and has been recently applied to the fDOT because it allows the reduction of the number of systems of equations that have to be solved. Let  $\psi_x, \psi_m$  and  $\psi_{xm}$  be the functions chosen to obey the following set of equations:

$$\begin{cases} \nabla \cdot (-D_x \nabla \psi_x^*) + k_x \psi_x^* = q_x^+ \\ \nabla \cdot (-D_m \nabla \psi_m^*) + k_m \psi_m^* = q_m^+ \\ \nabla \cdot (-D_x \nabla \psi_{xm}^*) + k_x \psi_{xm}^* = \beta \psi_m^* \end{cases} \quad (5)$$

\* stands for “complex conjugated”,  $q_x^+ = \delta(\mathbf{r} - \mathbf{r}_s)$  is a point source located at  $\mathbf{r}_s$ ,  $q_m^+ = \delta(\mathbf{r} - \mathbf{r}_d)$  is a point source located at a detector position  $\mathbf{r}_d$ . Using Robin boundary conditions (2), and applying the Green’s theorem, the following expression can readily be demonstrated:

$$\begin{aligned} \delta \varphi_m = & - \int_{\Omega} \nabla \psi_m^* \delta D_m \nabla \varphi_m d^3 r - \int_{\Omega} \psi_m^* \delta k_m \varphi_m d^3 r \\ & - \int_{\Omega} \nabla \psi_{xm}^* \delta D_x \nabla \varphi_x d^3 r - \int_{\Omega} \psi_{xm}^* \delta k_x \varphi_x d^3 r \\ & + \int_{\Omega} \psi_m^* \delta \beta \varphi_x d^3 r \end{aligned} \quad (6)$$

The problem is then reduced to the resolution of five PDEs (Eqs (1) and (5)). The functions  $\varphi_x$  and  $\varphi_m$ , on the one hand, and  $\psi_x^*$ ,  $\psi_m^*$  and  $\psi_{xm}^*$ , on the other, can then be stored, and do not need to be recalculated anytime the parameters  $\{\delta D_x, \delta D_m, \delta k_x, \delta k_m, \delta \beta\}$  are updated.

#### D. Finite Element Matrix Formulation

As the medium is inhomogeneous, a numerical resolution is definitely required for solving equations (1) and (5), and the FEM is a method of choice. Within the FEM, the volume object  $\Omega$  is divided into a limited number of elements, joined at vertices. The different quantities are approximated by piecewise quadratic functions. We used the Galerkin projection method [11] to express the equations into a weak form and the PDEs can be reformulated into a linear compact matrix form:

$$\mathbf{A}\Phi = \mathbf{Q} ; \quad \mathbf{A}^T \Psi = \Delta \quad (7)$$

$^T$  is the symbol for “transposed matrix”.

$\Phi$  is the vector representing the solutions to the forward problem, and  $\Psi$  those of the adjoint problem:

$$\begin{cases} \Phi(\mathbf{r}, \mathbf{r}_s)_{2 \times 1} = \begin{bmatrix} \varphi_x(\mathbf{r}, \mathbf{r}_s) \\ \varphi_m(\mathbf{r}, \mathbf{r}_s) \end{bmatrix} \\ \Psi(\mathbf{r}_d, \mathbf{r}) = \begin{bmatrix} \psi_x(\mathbf{r}_d, \mathbf{r}) & \psi_{xm}(\mathbf{r}_d, \mathbf{r}) \\ 0 & \psi_m(\mathbf{r}_d, \mathbf{r}) \end{bmatrix} \end{cases} \quad (8)$$

$\mathbf{A}$  is a matrix accounting for the different optical parameters:

$$\begin{cases} \mathbf{A}(\mathbf{r}) = \underline{\underline{\nabla}}^T \cdot (-D(\mathbf{r}) \underline{\underline{\nabla}}) + K(\mathbf{r}) \\ D(\mathbf{r})_{6 \times 6} = \begin{bmatrix} D_x(\mathbf{r}) \mathbf{I}_{3 \times 3} & 0 \mathbf{I}_{3 \times 3} \\ 0 \mathbf{I}_{3 \times 3} & D_m(\mathbf{r}) \mathbf{I}_{3 \times 3} \end{bmatrix} \\ K(\mathbf{r})_{2 \times 2} = \begin{bmatrix} k_x(\mathbf{r}) & 0 \\ -\beta(\mathbf{r}) & k_m(\mathbf{r}) \end{bmatrix} \end{cases} \quad (9)$$

with  $\underline{\underline{\nabla}}_{6 \times 2} = \begin{bmatrix} \nabla & 0 \\ 0 & \nabla \end{bmatrix}$ .  $\mathbf{Q}$  and  $\Delta$  are the vector and matrix accounting for the source terms:

$$\begin{cases} \mathbf{Q}(\mathbf{r}, \mathbf{r}_s)_{2 \times 1} = \begin{bmatrix} Q_o(\mathbf{r}_s) \delta(\mathbf{r} - \mathbf{r}_s) \\ 0 \end{bmatrix} \\ \Delta(\mathbf{r}_d, \mathbf{r}) = \begin{bmatrix} \delta(\mathbf{r}_d - \mathbf{r}) & 0 \\ 0 & \delta(\mathbf{r}_d - \mathbf{r}) \end{bmatrix} \end{cases} \quad (10)$$

One can demonstrate [6] that the vector  $\delta\Phi$  representing the variation on both the excitation and emission signals can also be written with the following compact formulation :

$$\delta\Phi(\mathbf{r}_d, \mathbf{r}_s) = - \int \Psi^T(\mathbf{r}_d, \mathbf{r}) \delta\mathbf{A}(\mathbf{r}) \Phi(\mathbf{r}, \mathbf{r}_s) d\Omega \quad (11)$$

Each time the variation on the parameters to be reconstructed are updated, only the matrix  $\delta\mathbf{A}$  has to be recalculated. By using the Green’s theorem :

$$\begin{aligned} \delta\Phi(\mathbf{r}_d, \mathbf{r}_s) = & - \int \underline{\underline{\nabla}}^T \Psi^T(\mathbf{r}_d, \mathbf{r}) [\delta D(\mathbf{r})] \underline{\underline{\nabla}} \Phi(\mathbf{r}, \mathbf{r}_s) d\Omega \\ & - \int \Psi^T(\mathbf{r}_d, \mathbf{r}) [\delta K(\mathbf{r})] \Phi(\mathbf{r}, \mathbf{r}_s) d\Omega \end{aligned} \quad (12)$$

When discretizing the medium into elementary volumes, Eq. (12) readily appears as a linear function of the parameters  $\{\delta D, \delta K\}$ .

#### E. Resolution of the Inverse Problem

The expression (12) is then included in a reconstruction scheme. It is usual to reformulate the problem in terms of a weight matrix:

$$\delta\Phi = \mathbf{W}^D [\delta D] + \mathbf{W}^K [\delta K] \quad (13)$$

Each column of  $\delta\Phi$  represents the measurement on the whole set of detectors  $N_d$  for a given source point S. This can be written, according to Ref. 12, as follows :

$$\delta\Phi_{sj} = \sum_{k=1}^N W_{jk}^D \delta D_k + \sum_{k=1}^N W_{jk}^K \delta K_k \quad \forall j \in [1, N_d] \quad (14)$$

with  $W_{jk}^D = -\nabla^T \Psi_{jk}^T \nabla \Phi_{ks}$  and  $W_{jk}^K = -\Psi_{jk}^T \Phi_{ks}$ . Algebraic Reconstruction Technique (ART) is chosen here since it allows efficient storage of the huge matrices  $\mathbf{W}$ . The advantage of ART over other algorithms for the linearized problem arises precisely from the use of the adjoint method for the expression of the weight matrices  $\mathbf{W}^D$  and  $\mathbf{W}^K$ , with the pre-computation of the forward and adjoint matrices  $\Phi$  and  $\Psi$ .

In all that follows, we will consider only the reconstruction of the parameter  $\delta\beta(\mathbf{r})$ . All other parameters are supposed known and constant.

### III. MULTIPLE STEP RECONSTRUCTION TECHNIQUE

In this section, our approach is illustrated with a simple 2D synthetic data example. We first start by generating synthetic data. A rectangle is considered (width: 8 cm; height: 2 cm). The medium is illuminated by a continuous ( $\omega=0$ ) collimated laser beam successively placed at 9 different positions at the bottom boundary. Within the Diffusion Approximation, the laser beam source is supposed to be totally diffuse after a distance of one transport mean free path [13], and can be approximated by a point-like source located at this distance. We arbitrarily consider media with  $D_x = D_m = 0.0324$  cm and  $\mu_{ax} = \mu_{am} = 0.3$  cm<sup>-1</sup>. To simplify the FEM treatment, we interpreted the Robin boundary conditions as a zero-flux boundary condition at an extrapolated distance [8]  $\ell_b = D_x/\zeta_x = 0.13$  cm, considering the index mismatch between water and air. 17 detectors are considered at the top interface. For the fluorochromes, we have chosen an ideal case for which  $\beta = 1$  cm<sup>-1</sup> inside the fluorescent region and 0 elsewhere. The fluorescent region is supposed to be a centered ellipse with semi-axes 0.5 cm and 0.25 cm, and a rotation angle -45°. It is well-known that results obtained with the FEM are mesh dependent. It has to be refined in small regions, in order to properly account for boundaries, while for large volumes, a coarse mesh generally suffices. In order not to remesh the medium for each calculation, a global mesh is defined, accounting for the different positions of sources and detectors. For this example, a regular triangular mesh is chosen, leading to 32385 elements and 16470 vertex nodes. Lagrange-quadratic basis functions are chosen for solving the forward problem.

#### A. Reconstruction

The first step in the reconstruction scheme consists in pre-computing the forward and adjoint matrices  $\Phi$  and  $\Psi$ , that is in solving the direct and adjoint systems (7). For calculating these quantities, we considered the same kind of mesh as for synthetic data generation, but with no subdomain inside the rectangle, in order not to introduce any prior

knowledge on the position and shape of the object to be reconstructed.

To speed up the treatment, and because the resolution expected for the results is weaker than the resolution needed to compute the synthetic data, once calculated, these matrices are then projected on a coarser mesh, in order to downsize the matrices. This new mesh defines the reconstruction mesh. We considered a pixel-based regular mesh (pixel size: 0.7 × 0.7 mm<sup>2</sup>=2645 pixels).

The weight matrix  $\mathbf{W}^K$  is then computed as defined for expression (14) and introduced in a classical ART reconstruction scheme. We first start with a rough reconstruction, with a relatively small number of iterations (10 iterations). We initialize the parameter to be reconstructed  $\delta\beta$  to 0. The result is presented in Fig. 1, with the superposition of the actual position of the ellipse (solid black line with circle markers).

In this first step, we can see that the localization and shape of the reconstructed object is satisfying. Nevertheless, the accuracy on the values is very poor and the aspect is inhomogeneous.

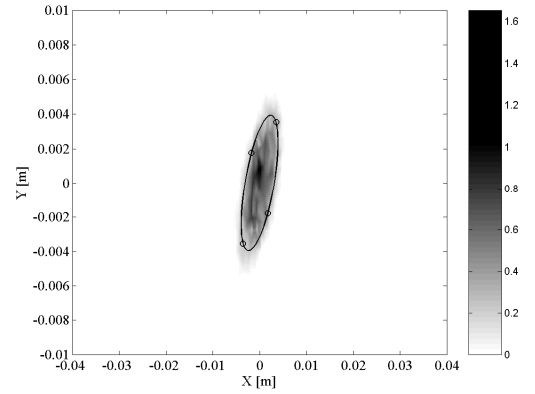


Fig. 1. First rough reconstruction

#### B. Segmentation

To homogenize the aspect of the results, we proceed to a segmentation. As the first reconstruction step has clearly identified two regions, we first define arbitrarily a threshold, delimiting the domain into two subdomains  $\Omega_1$  and  $\Omega_2$  with two different values  $\delta\beta_1$  and  $\delta\beta_2$ , each one being the mean value of  $\delta\beta$  calculated respectively in each subdomain. The problem is then restricted to the reconstruction of two unknowns. Taking into consideration the previous results, we decided to begin with a relatively small threshold 0.2. This choice is motivated by the fact that this value corresponds to the highest one providing two main homogeneous fluorescent regions. In order to suppress isolated points, the segmentation is regularized by applying a combination of morphological opening and closing. The solution is rapidly converging (few iterations) in so far as the number of unknowns is reduced to 2, and presented in Fig. 2.

In this operation, there is no modification in the geometry of the object, and we are exclusively focusing on reconstructing the actual values. Fig. 2 shows that the values reconstructed are inferior to the one expected, and this is due to the choice of a too weak threshold. But this new distribution of values can be introduced as the initialization of a second step general reconstruction. In this operation, there is no modification in the geometry of the object and we are exclusively focusing on reconstructing the actual values.

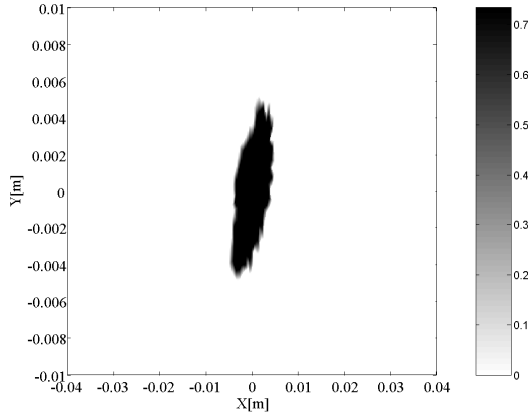


Fig. 2. Result after segmentation (threshold : 0.2)

### C. Summary

We have separated the globally ill-conditioned reconstruction scheme into a sequence of two short self-regularized reconstructions. The first one exploits the fact that limiting the number of iterations in an ART scheme is in itself a regularization factor [14]. In the second step, the reduction of the number of unknowns is also a regularization factor. The process is schematized in Fig. 3.

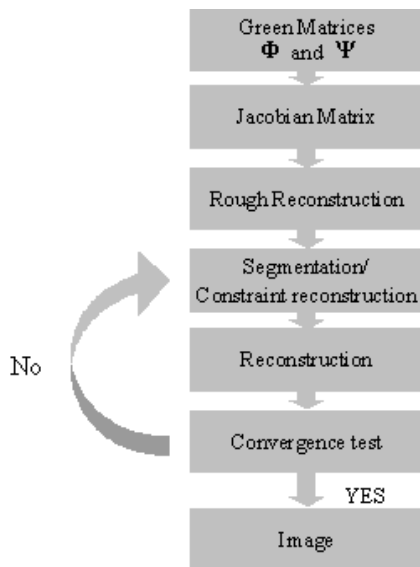


Fig. 3. Multiple step reconstruction scheme

We performed four loops of this reconstruction/segmentation scheme. At each iteration, the same segmentation rule is applied to update the threshold which value increases along iterations. In this case, the value determined in the last iteration is 0.8. The final results are presented in Fig. 4. The quantities and volume reconstructed are satisfying in so far as the error is less than 10% in the quantification and the surface difference between the actual and the reconstructed object is less than 3% ( $1.05 \text{ mm}^2$ ).

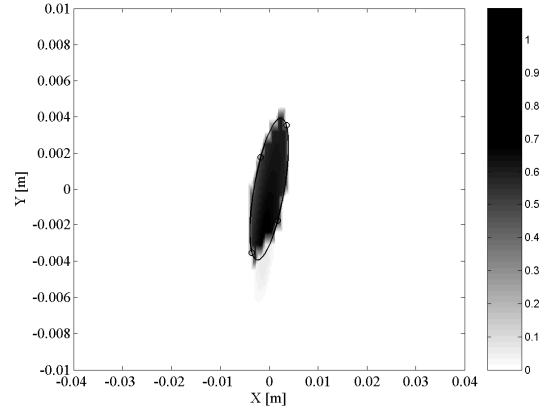


Fig. 4. Result after 4 segmentation/reconstruction loops

## IV. EVALUATION FOR EXPERIMENTAL 3D GEOMETRY

In order to test the robustness of the algorithm, we proceeded to experiments on calibrated objects (phantoms), with known optical properties, by using a tomographer designed in our laboratory. The quantity to be reconstructed is again  $\beta$ .

### A. Experimental Setup

The optical system (Fig. 5) is composed of a continuous ( $\omega = 0$ ) laser source (690 nm, 8 mW) for illumination and a CCD camera (Orca ER, Hamamatsu) for detection. The source is guided to an imaging chamber *via* an optical fiber. The movements of the scanning fiber are driven by two translating plates (Microcontrol) and monitored with a computer. The CCD camera is focused at the top surface of the chamber. For fluorescence light detection, a filter (high pass RG9, Schott) is placed in front of the camera.

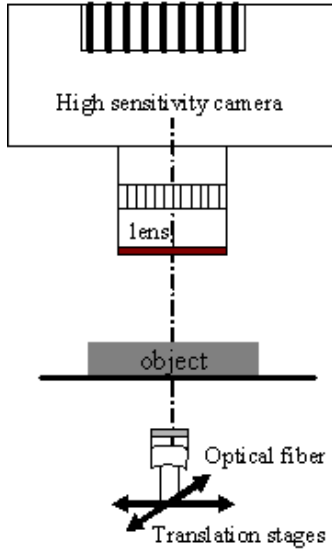


Fig. 5. Schematic of the experimental setup

A solid cylindrical phantom has been designed for the experiment. The diameter is approximately 10 cm and the thickness 1.5 cm. It is composed with a mixture of epoxy resin (Solloplast), titanium dioxide powder (Sigma-Aldrich) as the scatterers, and black India ink (Dalbe) as the absorber. The index of refraction is estimated to be 1.54, the diffusion coefficient  $10 \text{ cm}^{-1}$ , and the absorption coefficient  $0.2 \text{ cm}^{-1}$ . In order to easily introduce fluorescent inclusions, six holes have been drilled, at different depths (2, 3, 4, 5, 6 and 7 mm). To model the fluorescent region, we considered a thin glass tube (external diameter: 1.5 mm, internal diameter: 1 mm, length: 3 cm) filled with  $3 \times 10^{-3} \text{ cm}^3$  of commercial fluorescent dyes (Alexa 750, 10  $\mu\text{M}$ , Molecular Probes), introduced in the phantom at 6 mm depth (a radiography of the phantom is presented in Fig. 6, left).

A standard experiment consists in a series of three sets of data acquisition:

- a first scan is performed with no object inside the imaging chamber in order to precisely locate the positions of the sources;
- the phantom is then placed inside the chamber and a second scan is carried out in order to acquire the excitation signal;
- the filter is then added and the emission signal is finally acquired.

In this experiment,  $7 \times 12$  different sources positions, equally spaced, and separated by a distance of 3 mm have been considered (Fig. 6, right).

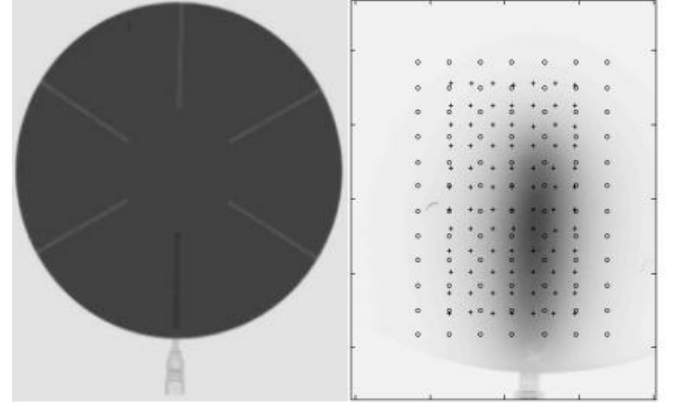


Fig. 6. Left: radiography of the 6 holes phantom with a capillary tube; right: superposition of the fluorescence reflectance image of the experiment, the positions of the sources (+ markers) and the selected detectors (- markers)

### B. 3D Reconstruction

The first step in the reconstruction process consists in calculating the Green's matrices for the actual geometry of the system. The geometry of the top surface of the phantom (XY directions) has been acquired with the CCD camera, and then extruded along a distance  $Z=1.5 \text{ cm}$ . The first scan experiment allows placing precisely the different sources at the bottom surface of the object. A CCD camera offers the possibility to consider much more detectors than needed. We have only considered as many detectors as sources with a field of view slightly larger than the one of the sources, corresponding to the region where fluorescent signal has been optimally detected. The system is then meshed and the Green's matrices computed and stored. In order to reduce the number of vertex nodes required for the calculation of the matrices, but also to keep a good accuracy, the mesh is refined only at the position of the source or detector considered. That means that each line of the matrices  $\Phi$  and  $\Psi$  are computed independently on an appropriate mesh that accounts properly for the discretization around the source/detector point. Each line of both matrices are then reprojected on a common voxel-based mesh. The computation time required for this step is about 14 min for meshes containing approximately 7600 vertex nodes (parallel computation of the matrices, bi-processor Sun Blade 2500 workstation, 1.4 GHz).

The values of each line of these matrices are then projected on the reconstruction mesh:  $20 \times 20 \times 20$  voxels filling the total volume of the cylinder (Fig. 7, top). Points not belonging to the cylinder are ignored.

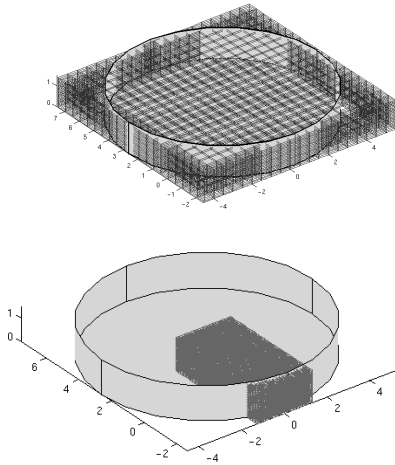


Fig. 7. Reconstruction meshes (*top*: large mesh for rough reconstruction,  $20 \times 20 \times 20$  voxels; *bottom*: reduced mesh  $18 \times 34 \times 20$  voxels)

A first rough ART reconstruction is ran under these conditions (10 iterations, with a relaxation parameter of 0.5), sufficient to define the region of interest where the fluorescent object is located. The reconstruction is presented in Fig. 8.

The mesh is then refined around this area ( $18 \times 34 \times 20$  voxels, Fig. 7, bottom) in order to get more accuracy and the reconstruction/segmentation loops process is completed.

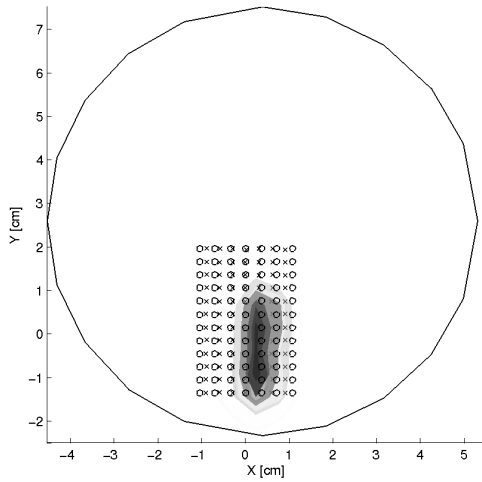


Fig. 8. XY top view of the first rough reconstruction for definition of the region of interest, superimposed with the sources ( $\times$  markers) and the detectors ( $-$  markers) positions.

In Fig. 9, the results of the first reconstruction step are presented. The object has been reconstructed on 10 different planes, corresponding to a thickness of  $8.7 \text{ mm}$ , that is far from the actual value  $1 \text{ mm}$ . The length  $3 \text{ cm}$  is close to the length of the actual tube. The main difficulty in performing image reconstructions with such a planar tomographer is to get a good enough resolution in depth.

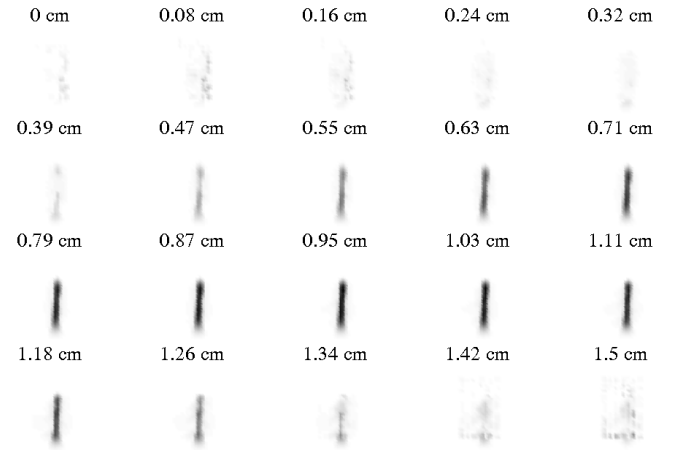


Fig. 9. Reconstructions obtained for the first reconstruction/segmentation iteration. Each image presents XY planes reconstructions for 20 depth values from 0 cm to 1.5 cm

The threshold has then been increased gradually (from 0.2 to 0.7) until convergence of the results, corresponding to 4 reconstruction/segmentation loops. The final results are presented in Fig. 10. The computation time for this step is approximately 15 min. A cylinder ( $2.6 \text{ cm}$  long and  $0.3 \text{ cm}$  large) has been reconstructed, with an axis located at  $0.9 \text{ cm}$  from the bottom surface. The resolution in the vertical direction is obviously expected to be smaller than in directions X or Y.

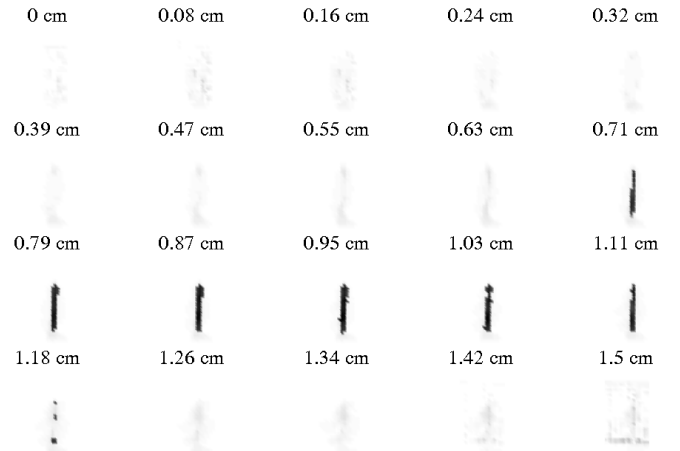


Fig. 10. Reconstructions obtained for the last reconstruction/segmentation iteration. Each image presents XY planes reconstructions for 20 depth values from 0 cm to 1.5 cm

A 3D representation of the final result is presented on Fig. 11.

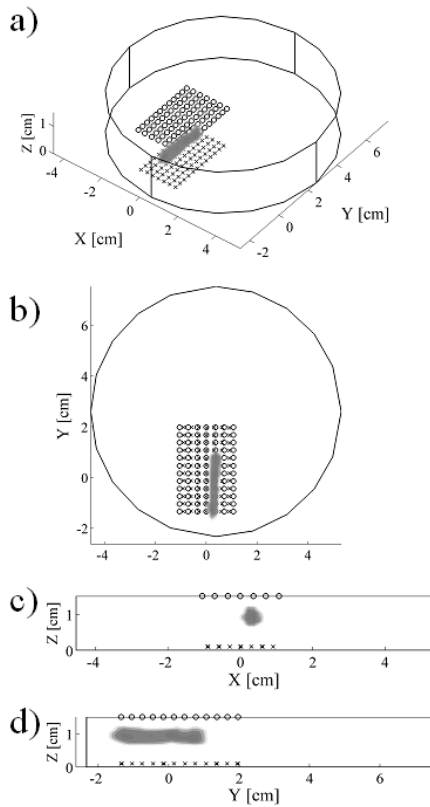


Fig. 11. 3D view of the final reconstruction (a); XY view (b); ZX view (c); ZY view (d)

Along iterations, the position of the axis of the reconstructed object has not moved, while the total volume has decreased (Fig. 12). This means that even a rough reconstruction is enough to locate the source of the fluorescence signal, and the essential gain in running the whole process is to recover precisely the shape and values of the fluorescent inclusion. Note that the final volume reconstructed (approximately  $5 \times 10^{-2} \text{ cm}^3$ ) is much larger than the actual volume of fluorochromes inserted inside the capillary tube ( $3 \times 10^{-3} \text{ cm}^3$ ). Indeed, the resolution of the optical technique is not sufficient to allow the reconstruction of objects with sub-millimeter dimension (we recall the diameter of the tube is approximately 1 mm).

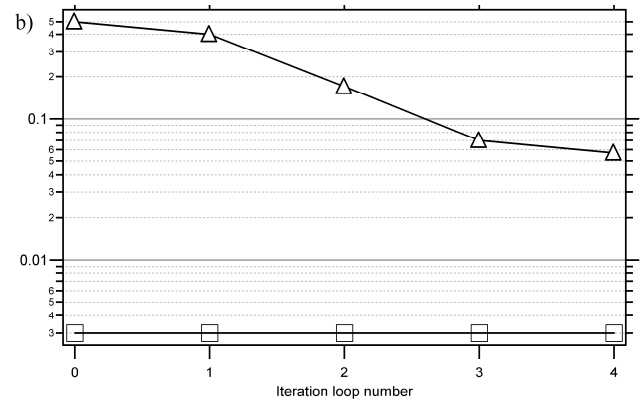


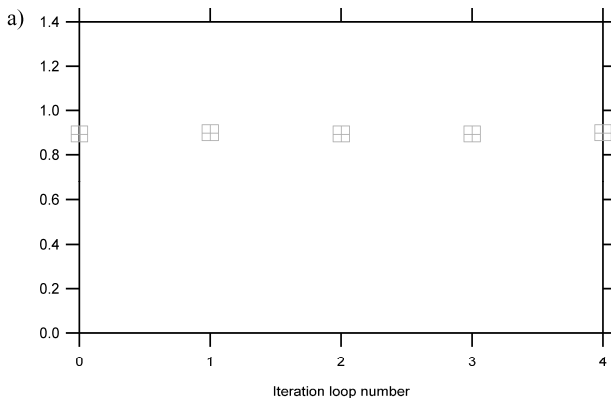
Fig. 12. a) Evolution of the position of the axis of the reconstructed object along iterations; b) Evolution of the reconstructed volume (triangle markers) along iterations (the square markers represent the actual volume of fluorochromes inside the tube).

## V. CONCLUSION

A reconstruction/segmentation scheme, based on the resolution of an adjoint problem has been implemented. Its applicability to actual experiments, performed on calibrated objects, with a home made optical tomographer, has been demonstrated. The technique is self-regularized and converges rapidly, allowing a rapid reconstruction of the fluorochromes distribution, with no need to introduce any prior knowledge with another imaging modality. The prior knowledge of the compactness of the fluorescent regions is introduced *via* a filtered segmentation of the results performed with a first rough reconstruction of the fluorescent regions. The results are then refined along iterations of the segmentation/ reconstruction scheme. The segmentation technique has still to be optimized, and more sophisticated tools, such as level set techniques can be introduced in the calculation. A phantom study has shown the performances of the technique and the difficulties in reconstructing sub-millimeter objects. In future works, more complex objects will be studied experimentally, in order to test the robustness of the technique with noisier data and with more complex geometry. A 3D measurement system of the surface of a small animal body should allow us to test the algorithm *in vivo*.

## REFERENCES

- [1] R. Weissleder, V. Ntziachristos, "Shedding light onto live molecular targets", *Nature Medicine*, vol. 9, no. 1, pp. 123-128, Jan. 2003.
- [2] A. Godavarty, M.J. Eppstein, C. Zhang, A.B. Thomson, M. Gurfinkel, S. Theru, E.M. Sevick-Muraca, "Fluorescence-enhanced optical imaging in large tissue volumes using a gain modulated ICCD camera" *Phys. Med. Biol.*, vol. 48, no. 12, pp. 1701-1720, Jun. 2003.
- [3] V. Ntziachristos, E.A. Schellenberger, J. Ripoll, D. Yessayan, E. Graves, A. Bogdanov, L. Josephson, R. Weissleder, "Visualization of antitumor treatment by means of fluorescence molecular tomography with an annexin V-Cy5.5 conjugate", *P.N.A.S.*, vol. 101, no. 33, pp. 12294-12299, Aug 2004.
- [4] R.B. Schulz, J. Ripoll, and V. Ntziachristos, "Experimental fluorescence tomography of tissues with noncontact measurements", *IEEE Transactions On Medical Imaging*, vol. 23, no. 4, pp. 492-500, Apr. 2004.
- [5] M. J. Eppstein, F. Fedele, J. Laible, C. Zhang, A. Godavarty, and E. M. Sevick-Muraca, "A Comparison of Exact and Approximate Adjoint



- Sensitivities in Fluorescence Tomography”, *IEEE Transactions On Medical Imaging*, vol. 22, no. 10, pp 1215-1223 Oct 2003.
- [6] F. Fedele, J.P. Laible, M.J. Eppstein, “Coupled complex adjoint sensitivities for frequency-domain fluorescence tomography: theory and vectorized implementation”, *Journal of Computational Physics*, vol. 187, pp. 597–619, 2003.
- [7] A. Joshi, W. Bangerth, and E. M. Sevick-Muraca, “Adaptive finite element based tomography for fluorescence optical imaging in tissue”, *Optics Express*, vol. 12, no. 22, pp. 5402-5417, Nov. 2004.
- [8] R.C. Haskell, L.O. Svaasand, T.T. Tsay, T.C. Feng, M.S. McAdams, B.J. Tromberg, “Boundary conditions for the diffusion equation in radiative transfer”, *J. Opt. Soc. Am. A*, vol. 11, no. 10, pp. 2727-2741, Oct. 1994.
- [9] G. I. Marchuk, V. I. Agoshkov, and V. P. Shutyaev, *Adjoint equations and perturbation algorithms in Nonlinear problems*, CRC Press, Boca Raton, FL, 1996.
- [10] M. Picone, A. Glière, P. Massé, « *A three-dimensional model of CdZnTe gamma-ray spectrometer* », *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research A*, vol. 504, pp. 313-316, 2003.
- [11] H. Grandin Jr., *Fundamentals of the Finite Element Method*, Macmillan, New York, 1986.
- [12] S R Arridge, “Optical tomography in medical imaging”, *Inverse Problems*, vol. 15, pp. R41–R93, Apr. 1999.
- [13] A. Ishimaru, *Wave Propagation and Scattering in Random Media*, Academic, New York, 1978.
- [14] D. Saint-Félix, *Image restoration: regularization of an ill-posed problem*, Thèse d'Etat, Université de Paris-Sud, Centre d'Orsay, 1987.





## ACCELERATION DES ALGORITHMES DE RESOLUTION DU MODELE DIRECT.

Le principal point bloquant à l'utilisation de ces techniques numériques est le temps de calculs. Dans le cadre de la thèse d'A. Frassati (financement CFR CEA, soutenue le 20 janvier 2009, directeur de thèse, D. Georges GIPSA-LAB à Grenoble). Deux approches ont été étudiées.

La première est basée sur une méthode réduction de modèle (Figure 47) par projection sur des bases d'ondelettes du modèle direct (à ne pas confondre avec la projection du signal de mesure avant reconstruction), afin d'accélérer la résolution numérique (MEF) de celui-ci. Un article a été publié dans la revue Applied Optics (Landragin-Frassati et al., 2009b). Formellement, grâce à l'utilisation de la méthode des variables adjointes, le problème se réduit à l'inversion d'un système matriciel linéaire :  $\mathbf{L}\mathbf{u} = \mathbf{q}$ , à résoudre  $N_s + N_d$  fois (nombre de mesures réalisées). L'idée est de réduire la dimension de la matrice de rigidité  $\mathbf{L}$  (typiquement  $15000 \times 15000$ ) tout en conservant l'essentiel des informations. L'approche s'apparente à la compression de données par projection sur des bases d'ondelettes (JPEG2000).

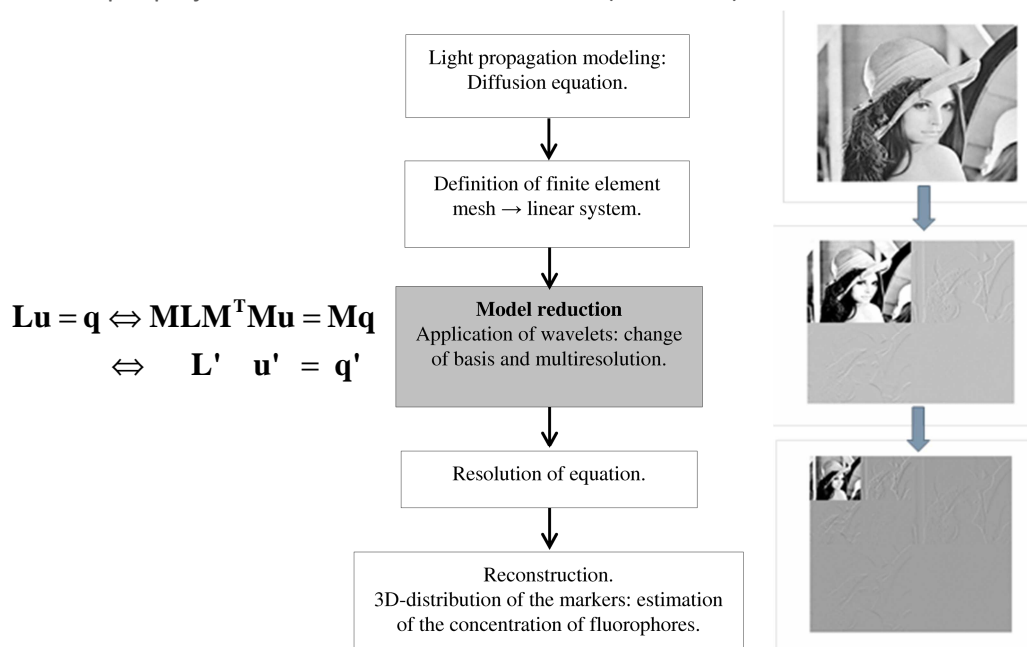


Figure 47 : Schéma décrivant l'algorithme et l'introduction de l'étape de décomposition en ondelettes.

A. Frassati a montré que les résultats obtenus avec cette méthodes sont globalement meilleurs que la méthode consistant simplement à utiliser un maillage plus grossier. Cependant, la méthode gagnerait en intérêt par l'exploitation des détails de la matrice de rigidité. La résolution des problèmes de DOT ou FDOT par compression de l'information est un problème que nous avons traité en avance de phase et qui est aujourd'hui d'actualité: T. Correia (Correia et al., 2013b) propose en effet une approche très similaire à celle que nous avons retenues, avec l'utilisation d'une autre famille d'ondelettes. C'est une voie que je souhaiterais poursuivre dans mes futurs projets, en travaillant en particulier sur l'exploitation des matrices de détails. Le problème du temps de calcul peut être résolu en partie grâce au progrès des performances informatiques et par l'utilisation du calcul intensif. Il reste néanmoins que l'approche du traiteur de signal permet d'accéder plus rapidement à l'information, avec une meilleure qualité, tout en limitant l'usage du calcul intensif.

Dans la seconde méthode, nous proposons de chercher des solutions sous la forme d'un développement sur des bases d'ondelettes (ondelettes de Daubechie d'ordre 3), à la place du

développement classique sur des bases de polynômes (méthode de Galerkin) utilisé par la MEF. Un article a été publié dans la revue Optics Express (Landragin-Frassati et al., 2009a) exposant l'approche et comparant les résultats de reconstruction avec ceux obtenus par une résolution du problème direct par la MEF (Figure 48). Un brevet a été déposé sur la méthode de calcul des coefficients de connexion (Brevet IX). Le tableau de la Figure 48 montre en particulier les temps de calculs requis pour chacune des simulations. La rapidité et la précision de cette approche en font une méthode extrêmement performante pour des géométries simples. La difficulté sera de gérer les géométries complexes. Comme le montre cette publication, cette difficulté est en partie levée par l'utilisation des méthodes dites « sans maillage » sur des domaines fictifs (Baccou and Liandrat, 2005; Glowinski et al., 1996).

**Table 2. Description of the 3 simulations**

	Rectangle 2D	Complex geometry 2D	Cube 3D
Size of fictitious domain	$4 \times 3 \text{ cm}^2$	$4 \times 3 \text{ cm}^2$	$3 \times 3 \times 3 \text{ cm}^3$
Number of sources	14	15	121
Number of detectors	14	7	121
Approximation level $j$	-3	-3	-2
Number of nodes W-G $N_x \times N_y \times N_z$	$37 \times 29 \times 1 = 1073$	$37 \times 29 \times 1 = 1073$	$17 \times 17 \times 17 = 4913$
Number of nodes FEM	$\sim 1100$	$\sim 1100$	$\sim 4900$
Time solving W-G	2 sec.	6 sec.	25 sec.
Time solving FEM	140 sec.	70 sec.	15 min.

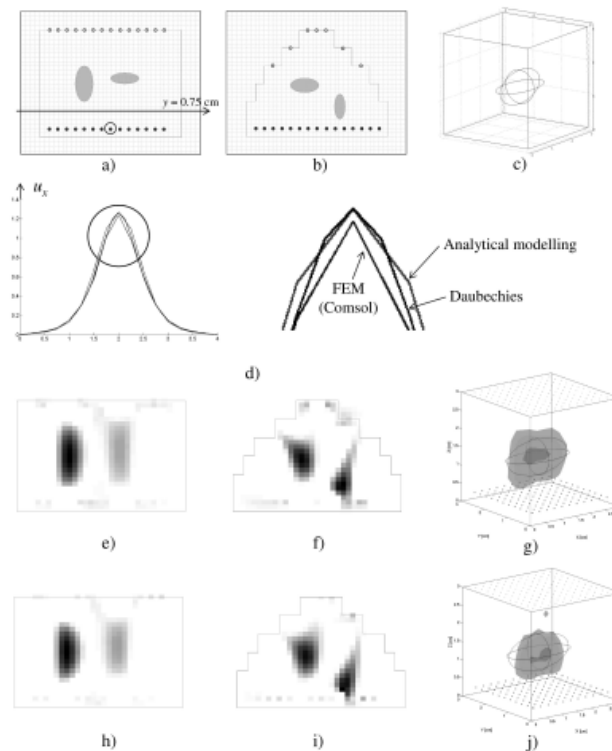


Figure 3. a) b) Schemas of the 2D geometries: black points: positions of the source; gray points: detectors; ellipses: 2 simulated fluorophores; gray grid: regular grid for a scale  $2^{-3}$ ; large rectangle: fictitious larger domain; c) schemas of the 3D geometry: ellipsoid: simulated fluorophore. d) Example of result for the forward problem ( $u_s$  for the source #8 (surrounded in a)), in the first simulation), by wavelet-Galerkin method, analytical modelling and FEM. e) h) Results of the rectangular simulation. f) i) Results of the irregular geometry simulation. g) j) Results of the cube simulation. e) f) g) Results after reconstruction, with a forward modelling by wavelet-Galerkin method and a reconstruction by ART; h) i) j) Results with a forward modelling by standard FEM method and a reconstruction by ART.

Figure 48 : Extrait de (Landragin-Frassati et al., 2009a)

#### IV. VERS UNE TOMOGRAPHIE RESOLUE EN TEMPS

En parallèle des développements liés à la conception du tomographe pour le petit animal, mes travaux se sont également portés sur la préparation du passage à l'imagerie de fluorescence de l'humain, réalisé dans le cadre d'un financement national de l'Institut CARNOT LETI. Le programme RTB du CEA-LETI a permis de construire une base de connaissances en marqueurs et en instrumentation dans le cadre de l'imagerie du petit animal. Le passage à l'homme présente des difficultés bien plus grandes du fait de l'épaisseur de tissus biologiques à traverser. Ce programme impliquait donc le développement d'une approche spécifique à l'examen des structures profondes (de l'ordre de 6 à 10 cm pour des examens du cancer du sein ou de la prostate par exemple...). Lors d'examen de structures profondes, la lumière d'excitation traverse beaucoup plus de tissus sain que de tissus malade et génère, au passage, de l'autofluorescence. Le signal émis par les tissus sains ne doit pas masquer le signal des tissus pathologiques. Ce programme présentait donc deux volets:

- développer des sondes très spécifiques et très lumineuses ;
- développer une approche résolue en temps peu sensible à l'autofluorescence.

Dans le cadre de ce projet, j'étais responsable d'une petite équipe constituée d'un doctorant (Nicolas Ducros ADR Région Rhône Alpes, sous la direction de F. Peyrin du laboratoire CREATIS de Lyon, 2006-2009) qui s'intéressait plus particulièrement aux aspects de modélisation, d'une post-doctorante (Nadia Djaker, 2006-2007) qui s'occupait de la partie instrumentale, et d'un post-doctorant (L. Guyon, 2006-2007), chargé de la modélisation de la chaîne d'acquisition.

Dans le cadre de la tomographie optique résolue en temps, je me suis intéressée à plusieurs aspects :

- ➔ l'utilisation de ces signaux pour la caractérisation des tissus biologiques ;
- ➔ le développement d'une méthodologie simple pour le développement d'un endoscope dédié à l'examen de la prostate ;
- ➔ l'étude du contenu informationnel de ce type de signaux.

Afin de poser les bases du problème, un travail théorique a été réalisé pour déterminer les expressions des quantités qui sont effectivement mesurées (densités de photons, flux ...) (Thèses d'A. Laidevant et N. Ducros). L'exploitation des données résolues en temps dans le domaine de la tomographie optique diffuse de fluorescence pose le problème de l'exploitation d'un très grand volume de données. L'idée est d'extraire les signatures caractéristiques du signal pour construire un algorithme de reconstruction efficace (Thèse de N. Ducros).

##### MESURES TEMPORELLES

Les techniques de tomographie optique résolues en temps utilisent comme source de lumière des impulsions laser très brèves ( $\sim$ fs à ps) à des taux de répétition élevés ( $\sim$ 50 MHz). Dans le cadre de l'accompagnement de la thèse d'A. Laidevant (Laidevant, 2006), il s'agissait d'étudier la réponse temporelle d'un fluorophore à une excitation optique très brève, dans le but de localiser et caractériser ce fluorophore au sein d'un milieu diffusant.

Le système expérimental utilise une carte TCSPC (Time Correlated Single Photon Counting) à comptage de photon unique. Le principe consiste à se placer dans un régime qui permette de détecter au maximum un photon par impulsion lumineuse. Le temps écoulé entre l'arrivée de chaque photon et l'impulsion de synchronisation est enregistrée grâce à une électronique spécifique. L'acquisition est effectuée sur un grand nombre d'impulsions laser ce qui permet de reconstituer un histogramme ou profil temporel d'arrivée des photons (TPSF pour Temporal Point Spread Function). La Figure 49 illustre les principaux éléments du système expérimental. La source de lumière est une diode pulsée à 50 MHz (diverses longueurs d'onde, 631 nm ou 680 nm). Le faisceau est focalisé sur l'entrée d'une fibre multi mode qui va éclairer le milieu diffusant. La lumière est collectée par une seconde fibre dont l'autre extrémité est placée devant un photomultiplicateur rapide. Pour des mesures en fluorescence, des filtres d'excitation et d'émission sont ajoutés au montage.

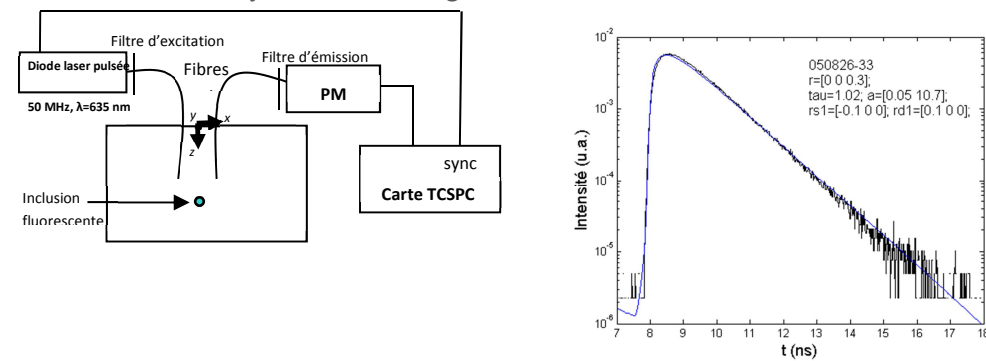


Figure 49 : Gauche : Illustration du dispositif expérimental. Droite : Comparaison entre une TPSF mesurée et la simulation correspondante (convoluée avec la réponse impulsionnelle de l'instrument (IRF pour Instrument Response Function))

Dans une première configuration expérimentale, le couple de fibres source-détecteur est placé au-dessus de l'inclusion fluorescente avec une distance interfibre de 2 à 3 mm. A. Laidevant a étudié qualitativement l'influence de la profondeur de l'inclusion fluorescente sur le signal enregistré : la position temporelle du maximum de la courbe de fluorescence varie *linéairement* avec la profondeur. Par ailleurs, différentes approches ont été mises en œuvre dans le but de localiser un fluorophore (unique dans un premier temps), soit par ajustement dans le domaine fréquentiel (transformée de Fourier du signal), soit en utilisant le premier moment (temps moyen d'arrivée des photons) des courbes temporelles dont la formule analytique en milieu infini s'écrit:

$$\langle t \rangle = \frac{r_{sr} + r_{rd}}{2c\sqrt{\mu_a D}} + \tau$$

$r_{sr}$  est la distance source-inclusion,  $r_{rd}$  la distance inclusion-détecteur,  $c$  la vitesse de propagation dans le milieu,  $\mu_a$  le coefficient d'absorption, et  $D = 1/[3(\mu_a + \mu'_s)]$ .  $\tau$  est le temps de vie du fluorophore. Ainsi, il est possible d'obtenir une localisation en  $z$ , au mm près, à partir d'une seule mesure, avec les fibres de collections placées au-dessus de l'inclusion fluorescente, à condition de supposer connu le déclin de fluorescence du fluorophore. Si la distance source-détecteur est quasi-nulle, le temps moyen varie également linéairement avec la profondeur (Figure 50).

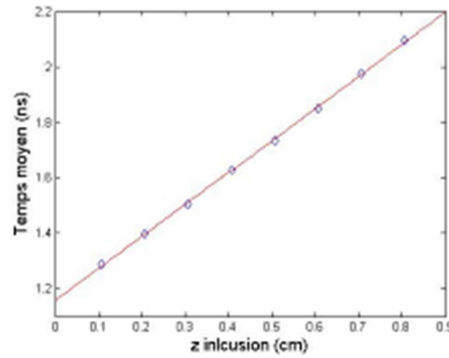


Figure 50: Temps moyen en fonction de la profondeur de l'inclusion.

Pour s'affranchir de l'incertitude sur le temps de vie, A. Laidevant a proposé une méthode différentielle permettant d'exploiter l'information sur le temps moyen tout en s'affranchissant de la connaissance de  $\tau$ . L'idée introduite par A. Laidevant est d'utiliser plusieurs mesures dont une, celle dont le rapport signal-à-bruit est le meilleur, sert référence (Brevet III, (Laidevant et al., 2007)).

Pour coupler la résolution temporelle et la résolution spatiale, l'intégration d'une caméra rapide a été étudiée. Ce système de mesure a été testé au cours d'une semaine de travail au Politecnico di Milano (Polimi), dans le cadre d'une collaboration européenne avec le Centre for Ultrafast Science and Biomedical Optics (European Large Scale Infrastructure). Il s'agit d'une caméra CCD rapide (Figure 51) qui présente l'avantage de réaliser une « image » de l'objet étudié (Laidevant et al., 2006).

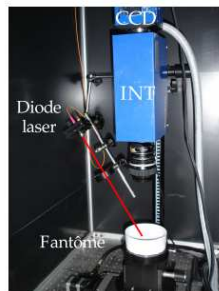
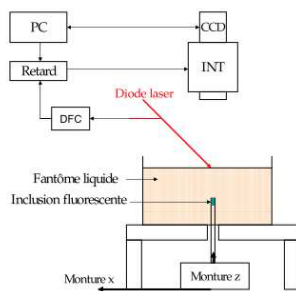


FIG. 5.17: Schéma (à gauche) et photo (à droite) du montage expérimental avec la caméra rapide, INT : intensificateur, DFC : Discriminateur à fraction constante.

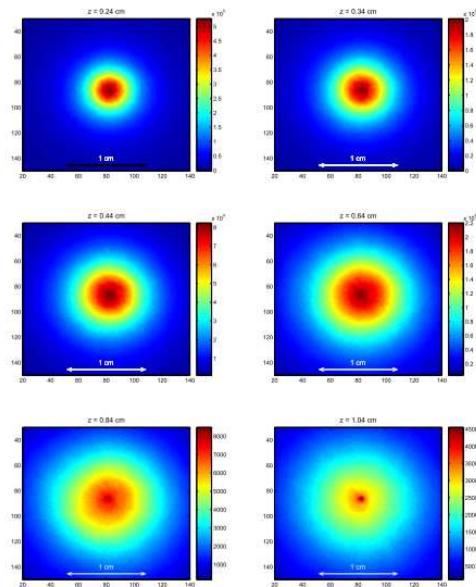


FIG. 5.18: Cartes d'intensité pour les profondeurs  $z = 0.24, 0.34, 0.44, 0.64, 0.84$  et  $1.04$  cm, ramenées au même temps d'intégration de 1 s.

Figure 51: Schéma du montage réalisé au Polimi et exemples de mesures de fluorescence acquises dans différentes fenêtres temporelles.

## ALGORITHME DE RECONSTRUCTION DE ZONES FLUORESCENTES

Les travaux de recherche décrits ci-après ont été menés dans le cadre de la thèse de Nicolas Ducros ((Ducros, 2009), financement ADR Région Rhône-Alpes, directeur de thèse : F.

Peyrin, CREATIS, Lyon) que j'ai co-encadrée de 2006 à 2009. N. Ducros a obtenu le prix de thèse de la Région Rhône-Alpes. L'objectif de la thèse était de construire une méthodologie pour l'exploitation optimale de l'information contenue dans ces mesures résolues en temps. Concrètement, à cette époque, il y avait deux classes d'instruments permettant de dissocier l'atténuation due à l'absorption de celle due à la diffusion :

- les techniques fréquentielles, principalement développées aux USA ;
- les techniques résolues en temps, développées historiquement en Europe.

Intuitivement, on comprend bien que, malgré une instrumentation complexe, le contenu informationnel des signaux résolus en temps est bien plus riche que celui des signaux continus (Figure 52).

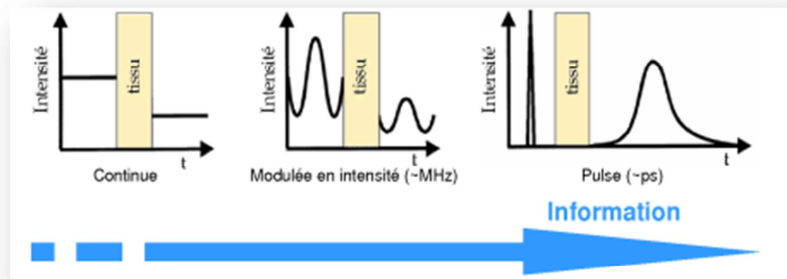


Figure 52: Différents types de signaux exploitables pour l'examen des tissus biologiques

En revanche, le volume de données acquis est bien trop important pour être exploité dans sa globalité. L'approche classique consiste à « compresser » le signal temporel  $\phi_m(\mathbf{r}, t)$  en le projetant sur des bases de fonctions, la plupart du temps, des fonctions puissances. On se ramène ainsi à l'exploitation des moments d'ordre  $k$  de la courbe initiale :

$$m_k = \frac{\int_{-\infty}^{+\infty} t^k \phi_m(\mathbf{r}, t) dt}{\int_{-\infty}^{+\infty} \phi_m(\mathbf{r}, t) dt} = \langle t^k \rangle$$

La difficulté est ensuite de définir la combinaison de moments optimale pour traiter le problème, sans redondance d'information. Dans son article (Ducros et al., 2009b, 2009c) en 2 parties publié dans la revue *Physics in Medicine and Biology*, N. Ducros présente une étude théorique critique et minutieuse sur l'exploitation des mesures résolues en temps et l'utilisation de la méthode des moments en FDOT :

- ➔ Dans la première partie (Ducros et al., 2009c), des outils théoriques (formules analytiques) sont établis pour la construction du schéma de reconstruction basé sur l'exploitation des moments ;
- ➔ Dans la seconde partie (Ducros et al., 2009b), les reconstructions montrent que l'exploitation des moments d'ordre supérieur à 1 n'est intéressante que si le rapport signal à bruit est suffisamment bon (Figure 53).

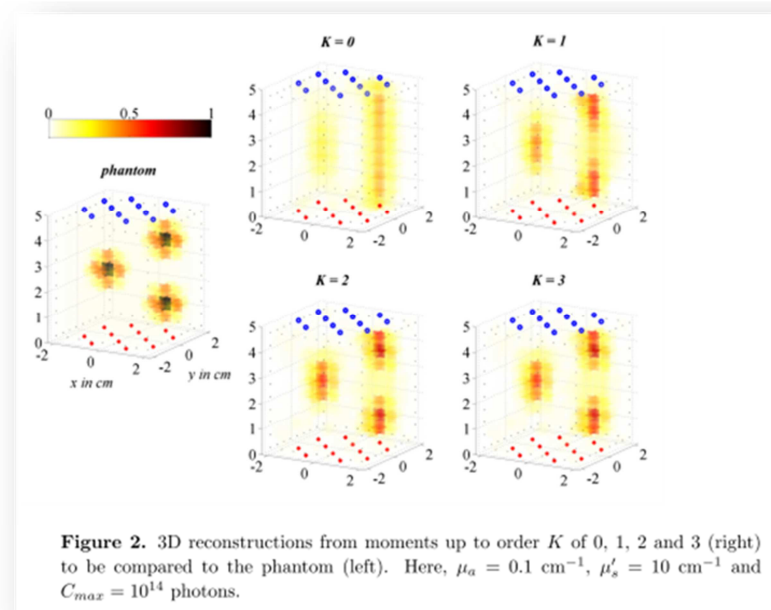


Figure 53: extrait de (Ducros et al., 2009b)

Dans un travail mené en collaboration avec le BIG (Biomedical Imaging Group, dirigé par M. Unser) de l'EPFL (Lausanne, Suisse), N. Ducros a étudié l'intérêt d'une projection sur d'autres bases de fonction, telles que des ondelettes. Ceci a fait l'objet d'un article (Ducros et al., 2010) sur la comparaison entre la projection sur des bases d'ondelettes de Haar et l'approche conventionnelle des moments. Dans cette étude, nous montrons que la projection sur des bases d'ondelettes est plus robuste lorsque les signaux sont bruités. D'autres bases d'ondelettes ont également été exploitées (Ducros et al., 2009a).

#### METHODE RAPIDE DE LOCALISATION D'UN OBJET ABSORBANT OU FLUORESCENT.

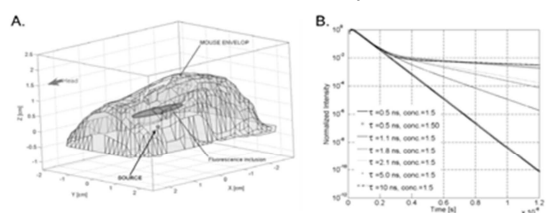
Par ailleurs, j'ai également proposé une approche différente, plus pragmatique, particulièrement adaptée au problème de l'imagerie de la prostate qui impose des contraintes sur la géométrie d'acquisition des données (acquisition en rétrodiffusion, peu de sources, peu de détecteurs). Il s'agit d'une généralisation de la démarche engagée par Aurélie Laidevant au cours de sa thèse. En examinant de plus près l'expression théorique du temps moyen d'arrivée des photons mesurés et en procédant par analogie avec les méthodes ultrasonores de télédétection d'objets enfouis (de type temps de vol), j'ai montré que l'on pouvait localiser très simplement un objet absorbant (ou fluorescent) grâce à un nombre réduit de mesures (Da Silva et al., 2010)(Brevet VIII). Cette méthode est particulièrement intéressante quand il s'agit d'examiner des organes qui ne sont accessibles que par endoscopie (prostate, œsophage), et pour lesquels une tomographie (examen sous plusieurs points de vues) à proprement parler est impossible.

#### NANOPARTICULES POUR L'IMAGERIE

Les simulations numériques (Méthode des Éléments Finis, MEF) ont été relativement poussées et réalisées sur des géométries de souris extraites de mesures morphologiques réelles (Figure 54). En particulier, elles ont permis de démontrer l'importance pour l'imagerie optique de nanoparticules fluorescentes à temps de vie *relativement* long (Texier et al., 2009) (Brevet V): un temps de vie long permet de s'affranchir de la fluorescence du milieu environnant



(autofluorescence), mais si ce temps de vie est trop long, on perd une partie de l'intérêt d'utiliser des techniques de mesures résolues en temps.



**Fig. 8 A.** Description of the synthetic mouse-like medium used for simulations: it is composed of three sub-domains, representing the body of the mouse, the ellipsoidal fluorescence inclusion, and the position of the excitation source. **B.** Temporal fluorescence profiles detected at position (0.2 cm, 0 cm, 0.25 cm), for different relative fluorochromes concentrations (conc. background:inclusion), and increasing inclusion lifetime  $\tau$  (background lifetime is kept unchanged and equal to 0.5 ns).

Figure 54: Extrait de (Texier et al., 2009)

## V. CONCLUSION

J'ai ainsi pu bénéficier d'une « niche » de recherche amont assez rare au LETI, organisme de recherche tourné essentiellement vers la recherche très appliquée. Ces cinq années passées au laboratoire LISA du CEA-LETI ont en effet été extrêmement productives pour moi: 9 brevets déposés, 20 publications, une quarantaine de conférences... Avant de parvenir à ces résultats, il a fallu mettre en place les outils permettant d'y parvenir, dans la période 2003-2005 :

- Partant d'une petite équipe composée de 3-4 personnes en 2003, une équipe de recherche structurée composée de plusieurs permanents (ingénieurs-chercheurs, ingénieurs d'études, techniciens), plusieurs post-docs (1 ou 2 par an), plusieurs doctorants (1 ou 2 par an) s'est mise en place au fur et à mesure;
- Des infrastructures et des supports technique et logistique efficaces.

Tout ceci allant bien évidemment avec des financements appropriés, que nous avons pu obtenir au fur et à mesure de nos développements, provenant de sources différentes : interne CEA-LETI (programme RTB, thèses CFR/département DTBS), Institut Carnot LETI, ANR (Tomofluo3D, Prostafluor), FP7 (FMT-XCT).

J'ai ainsi participé au développement de trois tomographes basés sur le principe de FDOT :

- Tomographe de fluorescence, en mode continu, dédié au petit animal, testé de manière indépendante par plusieurs laboratoires publics, utilisé sur plusieurs plateformes d'imagerie ;
- Tomographe bi-modalité optique-X, en mode continu, dédié au petit animal ;
- Sonde bi-modale optique-US, résolue en temps, pour l'examen de la prostate.

En FDOT en mode continu, j'ai notamment introduit l'idée de correction d'atténuation, en utilisant le signal d'excitation pour reconstruire une carte d'atténuation, afin d'améliorer les reconstructions de la distribution de marqueurs. Jusque-là, la prise en compte des hétérogénéités se faisait essentiellement par la seule normalisation par ce signal d'excitation ('normalized Born approximation'). Cette correction d'atténuation nous a, de plus, également permis de nous affranchir du liquide d'adaptation d'indice nécessaire pour modéliser le

problème direct analytiquement. J'ai également adapté le problème direct pour une résolution analytique en géométrie cylindrique. Compte-tenu des fortes hétérogénéités que l'on rencontre chez le petit animal (pas forcément dans d'autres organes), une résolution analytique n'est pas toujours suffisante. C'est pourquoi, on s'est intéressé dès le début de nos projets à des procédures de reconstruction basées sur une résolution numérique du problème direct (MEF), efficace du point de vue du temps de calcul et de la précision. Dans le cadre de la thèse d'A. Frassati, deux approches, basées sur l'utilisation de projection sur des ondelettes, ont été étudiées :

- La première est une méthode de réduction de modèle permettant de réduire la dimension de la matrice poids (jacobienne), au prix d'une perte de précision pour le moment, dans la mesure où l'on ne retient que les matrices d'approximation puisqu'on ne sait pas traiter convenablement les matrices de défauts.
- La seconde est une méthode basée sur l'utilisation des ondelettes (Daubechie d'ordre 3) comme fonctions de base de l'approximation, à la place du développement classique sur des bases de polynômes (méthode de Galerkin) utilisé par la MEF. Cette approche permet de résoudre le problème direct beaucoup plus rapidement qu'en MEF, tout en conservant une très bonne précision.

Ces travaux, réalisés de 2006 à 2009, étaient relativement précurseurs car d'autres équipes s'intéressent actuellement à cette problématique d'accélération du temps de calcul par réduction de modèle (Correia et al., 2013b, 2013c)(Yang et al., 2010) ou par utilisation d'autres bases de fonction.

En DOT résolue en temps, un travail de fond a été mené depuis le début, d'abord dans le cadre de la thèse d'A. Laidevant pour améliorer la mesure et l'exploitation du signal résolu en temps et de mettre en place une procédure de détermination des propriétés optiques des tissus biologiques ainsi que l'algorithmie de reconstruction de la distribution des marqueurs fluorescents. J'ai ensuite généralisé l'approche développée et proposée une méthode rapide de localisation d'objets fluorescents. Dans le cadre de la thèse de N. Ducros, une étude théorique complète sur le contenu informationnel de ces signaux résolus en temps, par rapport aux mesures prises en continu, a montré que le recours à cette technologie très sophistiquée était essentiel dans le cadre de l'examen d'organes en rétrodiffusion (prostate). L'intérêt du filtrage du signal fluorescent par des ondelettes a également été démontré. Ces deux thèses ont donc favorisé la compréhension (interprétation et exploitation) du contenu informationnel véhiculé par ces signaux résolus en temps.

## VI. REFERENCES

- Arridge, S.R., 1999. Optical tomography in medical imaging. *Inverse Probl.* 15, R41–R93.
- Baccou, J., Liandrat, J., 2005. On coupling wavelets with fictitious domain approaches. *Appl. Math. Lett.* 18, 1325–1331.
- Bremer, C., Tung, C.H., Weissleder, R., 2001. In vivo molecular target assessment of matrix metalloproteinase inhibition. *Nat. Med.* 7, 743–748.
- Correia, T., Ducros, N., D’Andrea, C., Schweiger, M., Arridge, S., 2013a. Quantitative fluorescence diffuse optical tomography in the presence of heterogeneities. *Opt. Lett.* 38, 1903–1905.
- Correia, T., Rudge, T., Arridge, S., 2013b. Efficient image reconstruction in fluorescence diffuse optical tomography (fDOT) using data and solution compression 87990H–87990H.
- Correia, T., Rudge, T., Koch, M., Ntziachristos, V., Arridge, S., 2013c. Wavelet-based data and solution compression for efficient image reconstruction in fluorescence diffuse optical tomography. *J. Biomed. Opt.* 18.
- Da Silva, A., Dinten, J.M., Coll, J.L., Rizo, P., 2008. From small animal molecular imaging to human being screening. *Bull. Cancer (Paris)* 95, S26–S27.
- Da Silva, A., Djaker, N., Ducros, N., Dinten, J.M., Rizo, P., 2010. Real time optical method for localization of inclusions embedded in turbid media. *Opt. Express* 18, 7753–7762.
- Da Silva, A., Leabad, M., Bordy, T., Dinten, J.-M., Peltié, P., Rizo, P., 2007. Design of a Small Animal Multimodality Tomographer for X-Ray and Optical Coupling: Theory and experiments. *Nucl. Instruments Methods Phys. Res.* 571, 118–121.
- Da Silva, A., Leabad, M., Driol, C., Bordy, T., Debourdeau, M., Dinten, J.-M., Peltié, P., Rizo, P., 2009. Optical calibration protocol for X-ray and optical multimodality tomography system dedicated to small animal examination. *Appl. Opt.* 48, D151–D162.
- Driol, C., Leabad, M., Debourdeau, M., Da Silva, A., Dinten, J.-M., Peltié, P., Rizo, P., 2005. Small Animal Multimodality tomographic reconstruction: Fluorescence Diffuse Optical Tomography and 3D X-Rays Reconstructions. Presented at the Society for Molecular Imaging, Cologne, Allemagne.
- Ducros, N., 2009. Tomographie optique de fluorescence dans les milieux diffusants : apport de l’information temporelle. Université Claude Bernard - Lyon I, Lyon.
- Ducros, N., Da Silva, A., Dinten, J.M., Seelamantula, C.S., Unser, M., Peyrin, F., 2010. A time-domain wavelet-based approach for fluorescence diffuse optical tomography. *Med. Phys.* 37, 2890–2900.
- Ducros, N., Da Silva, A., Dinten, J.-M., Sekhar Seelamantula, C., Unser, M., Peyrin, F., 2009a. Time resolved fluorescence diffuse optical tomography using multi-resolution exponential b-splines. Presented at the ISBI.
- Ducros, N., Da Silva, A., Herve, L., Dinten, J.M., Peyrin, F., 2009b. A comprehensive study of the use of temporal moments in time-resolved diffuse optical tomography: part II. Three-dimensional reconstructions. *Phys. Med. Biol.* 54, 7107–7119.
- Ducros, N., Herve, L., Da Silva, A., Dinten, J.M., Peyrin, F., 2009c. A comprehensive study of the use of temporal moments in time-resolved diffuse optical tomography: part I. Theoretical material. *Phys. Med. Biol.* 54, 7089–7105.
- Fedele, F., Laible, J.P., Eppstein, M.J., 2003. Coupled complex adjoint sensitivities for frequency-domain fluorescence tomography: theory and vectorized implementation. *J. Comput. Phys.* 187, 597–619.
- Frassati, A., 2009. Optimisation d’algorithmes en tomographie optique diffuse de fluorescence : apport des ondelettes pour la modélisation. Institut polytechnique de Grenoble.
- Glowinski, R., Pan, T.W., Wells Jr., R.O., Zhou, X., 1996. Wavelet and Finite Element Solutions for the Neumann Problem Using Fictitious Domains. *J. Comput. Phys.* 126, 40–51.
- Hervé, L., Da Silva, A., Boutet, J., Frassati, A., Dinten, J.-M., Peltié, P., Rizo, P., 2007a. Non Contact Fluorescence Optical Tomography by means of Numerical and Analytical Approaches. *Nucl. Instruments Methods Phys. Res.* 571, 203–206.
- Hervé, L., Da Silva, A., Koenig, A., Dinten, J.-M., Boutet, J., Berger, M., Texier, I., Peltié, P., Rizo, P., 2007b. Fluorescence tomography enhanced by taking into account the medium heterogeneity. *Nucl. Instruments Methods Phys. Res.* 571, 60–63.
- Hervé, L., Koenig, A., Da Silva, A., Berger, M., Boutet, J., Dinten, J.-M., Peltié, P., Rizo, P., 2007c. Non Contact Fluorescence Diffuse Optical Tomography of Heterogeneous Media. *Appl. Opt.* 46, 4896–4906.
- Herve, L., Koenig, A., Dinten, J.-M., 2011. Non-uniqueness in fluorescence-enhanced continuous wave diffuse optical tomography. *J. Opt.* 13.

- Koenig, A., Hervé, L., Da Silva, A., Dinten, J.-M., Boutet, J., Berger, M., Texier, I., Peltié, P., Rizo, P., Josserand, V., Coll, J.-L., 2007. Whole body small animal examination with a diffuse optical tomography instrument. *Nucl. Instruments Methods Phys. Res.* 571, 56–59.
- Koenig, A., Hervé, L., Josserand, V., Berger, M., Boutet, J., Da Silva, A., Dinten, J.-M., Peltié, P., Coll, J.-L., Rizo, P., 2008. In vivo mice lungs tumors follow-up with fDOT. *J. Biomed. Opt.* 13.
- Laidevant, A., 2006. Méthodes optiques résolues en temps pour la tomographie de fluorescence dans les milieux diffusants. Joseph Fourier - Grenoble I, Grenoble.
- Laidevant, A., Da Silva, A., Berger, M., Boutet, J., Dinten, J.-M., Boccara, A.C., 2007. Analytical method for localizing a fluorescent inclusion in a turbid medium. *Appl. Opt.* 46, 2131–2137.
- Laidevant, A., da Silva, A., Peltié, P., Dinten, J.-M., D’Andrea, C., Spinelli, L., Valentini, G., Cubeddu, R., 2006. Time-Resolved Imaging of a Fluorescent Inclusion in a Turbid Medium Using a Gated CCD Camera, in: *Technical Digest (CD)*. Presented at the Biomedical Optics, Optical Society of America, p. SH52.
- Landragin-Frassati, A., Bonnet, S., Da Silva, A., Dinten, J.M., Georges, D., 2009a. Application of a wavelet-Galerkin method to the forward problem resolution in fluorescence Diffuse Optical Tomography. *Opt. Express* 17, 18433–18448.
- Landragin-Frassati, A., Dinten, J.M., Georges, D., Da Silva, A., 2009b. Model reduction using wavelet multiresolution technique applied to fluorescence diffuse optical tomography. *Appl. Opt.* 48, 6878–6892.
- Ntziachristos, V., Weissleder, R., 2001. Experimental three-dimensional fluorescence reconstruction of diffuse media by use of a normalized Born approximation. *Opt. Lett.* 26, 893–895.
- Texier, I., Goutayer, M., Da Silva, A., Guyon, L., Djaker, N., Josserand, V., Neumann, E., Bibette, J., Vinet, F., 2009. Cyanine-loaded lipid nanoparticles for improved in vivo fluorescence imaging. *J. Biomed. Opt.* 14, 11.
- Weissleder, R., 2002. Scaling down imaging: molecular mapping of cancer in mice. *Nat. Rev.* 2, 1–8.
- Weissleder, R., Tung, C.H., Mahmood, U., Bogdanov, A., 1999. In vivo imaging of tumors with protease-activated near-infrared fluorescent probes. *Nat. Biotechnol.* 17, 375–378.
- Yang, F., Gao, F., Ruan, P., Zhao, H., 2010. Combined domain-decomposition and matrix-decomposition scheme for large-scale diffuse optical tomography. *Appl. Opt.* 49, 3111–3126.



# CHAPITRE 3 : METHODES OPTIQUES POUR L'IMAGERIE DES TISSUS BIOLOGIQUES A L'ECHELLE MESOSCOPIQUE

## CONTENU

Chapitre 3 : Méthodes optiques pour l'imagerie des tissus biologiques à l'échelle

mésoscopique .....	105
I. Propriétés de la lumière polarisée .....	107
Formalisme de Jones : L'ellipse de polarisation .....	107
Formalisme de Stokes.....	108
II. Techniques d'imagerie polarimétriques des tissus biologiques.....	109
Notion de « mémoire » de polarisation .....	109
Imagerie biomédicale par filtrage polarimétrique .....	110
III. Principe du filtrage polarimétrique pour le sondage en profondeur des tissus biologiques .....	113
Principe d'extraction de la lumière polarisée.....	113
Introduction de la polarisation elliptique pour un sondage sélectif selon la profondeur .....	116
IV. Modélisation de la Propagation de la Lumière Polarisée en Milieux Diffusants : Développement d'un Outil de Simulation Basé sur la Méthode Monte Carlo.....	127
Méthodes statistiques .....	128
V. Introduction de la polarisation elliptique pour une résolution en profondeur : Evolution de la profondeur sondée en fonction des propriétés optiques .....	129
VI. Vers un sondage polarimétrique en trois dimensions en milieu diffusant .....	137
Sondage polarimétrique tridimensionnel grâce à une mesure en rétrodiffusion .....	137
Vers une imagerie 3D résolue en polarisation : Etat de L'art .....	146
VII. Conclusion .....	147
VIII. Références .....	149

Depuis bientôt une vingtaine d'années, les techniques d'imagerie optique proposent une alternative aux techniques d'imagerie du vivant conventionnelles, grâce à l'utilisation du rayonnement de la gamme de longueurs d'onde visible, allant, comme on l'a vu, du bleu au proche infrarouge. Rappelons que les objectifs dans ce domaine de recherche sont multiples : i) utilisation d'un rayonnement non ionisant, donc inoffensif pour le patient ; ii) réalisation de « biopsie » non invasive des tissus; iii) ceci avec un matériel bas coût et facilement implantable dans toute unité préclinique ou clinique.

On peut dire que, globalement, l'imagerie optique du vivant se décline selon deux familles :

- la microscopie haute résolution : elle vise le sondage de l'infiniment petit, l'imagerie de la cellule et idéalement de la molécule *in vivo*, avec l'objectif de repousser les limites de l'optique géométrique pour favoriser la compréhension des mécanismes biologiques;
- l'imagerie dans les tissus épais : il s'agit de sonder des organes humains, tels que le sein ou le cerveau, ou bien de faire de l'imagerie préclinique, sur petits animaux (souris de laboratoire) par exemple. Le défi est ici d'imager des objets peu contrastés, tels que des tumeurs, à travers plusieurs centimètres de tissus fortement absorbants et diffusants, avec une résolution suffisante.

Dans le premier cas, on peut se servir des propriétés de cohérence de la lumière pour repousser les limites de résolution, et ainsi faire appel à une instrumentation optique astucieuse pour

s'affranchir des phénomènes parasites et augmenter le rapport signal sur bruit; dans le second, la propagation se fait de manière incohérente, la marge de manœuvre est plus limitée au niveau de l'instrumentation, et il faut faire intervenir des modèles physiques de plus en plus sophistiqués pour comprendre et mieux rendre compte de la propagation dans ces milieux aléatoires.

La technique que nous développons à l'Institut Fresnel permet d'explorer une échelle intermédiaire, l'échelle dite « mésoscopique », allant de la dizaine de microns à quelques millimètres, dans le but d'offrir une technologie pour l'examen des tissus biologiques superficiels (ou relativement transparents) à la fois simple (examen en champ large, sans contact) et hautement résolue.

La Figure 55 représente les quatre grandes catégories de techniques d'imagerie optique, selon une double classification en termes de profondeur de pénétration et de résolution : la microscopie, la tomographie par cohérence optique (OCT pour Optical Coherence Tomography), les méthodes hybrides, utilisant une sélection de photons spéculaires ou quasi-spéculaires, et la tomographie optique diffuse (DOT pour Diffuse Optical Tomography), pour sonder les structures profondes, pour lesquels il n'y a plus de photons spéculaires.

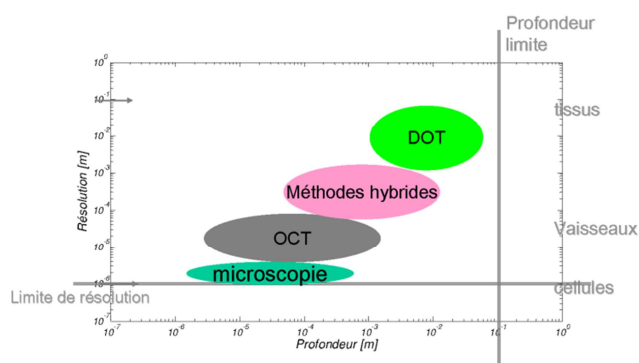


Figure 55: L'imagerie optique multiéchelle adapté de (Da Silva, 2010; Tromberg et al., 2005).

Cette technique fait partie de la classe des méthodes hybrides et est basée sur la sélection des photons par filtrage polarimétrique. Par rapport aux méthodes citées plus haut, la polarimétrie, largement utilisée par ailleurs dans le diagnostic des matériaux et en télédétection (marine, atmosphérique), a été longtemps dénigrée. Elle connaît cependant depuis peu un fort engouement essentiellement dû au fait que, contrairement aux techniques conventionnelles basées pour l'essentiel sur l'exploitation de contrastes d'atténuation, les méthodes polarimétriques sont très sensibles à la structure du milieu. Leur incorporation dans des techniques plus conventionnelles telles que la microscopie ou l'OCT permettent aujourd'hui de remonter à des informations fines sur la structure en collagène du tissu (œil, peau) ou la conformation spatiale de cellules examinées *in vitro*. Des études prometteuses sur l'examen polarimétrique de tissus ont été réalisées en dermatologie, où les mélanomes ou autres lésions (lupus) peuvent être caractérisés par des indicateurs polarimétriques divers (dépolérisation et biréfringence). Ces examens permettent de mieux diagnostiquer et de mieux délimiter la zone pathologique. Ces méthodes restent néanmoins limitées à l'examen minutieux de la surface du tissu.

On se propose d'apporter à ces techniques d'imagerie polarimétrique superficielles une information sur la profondeur effectivement sondée, en introduisant l'utilisation de la lumière

polarisée elliptiquement très rarement utilisée jusqu'à présent. Ce travail comporte trois volets essentiels :

1. La conception d'un instrument dédié à l'examen des tissus biologiques. Un banc de laboratoire a été mis en place pour permettre de développer la méthode, de la tester sur fantômes mais également *in vivo*. Il est suffisamment versatile pour permettre d'examiner différents types de tissus. Des tests ont ainsi pu être réalisés sur des prélèvements de tissus (blancs ou peau de poulet) ainsi que sur le cortex de rats (Da Silva et al., 2012).
2. Le développement d'un outil-logiciel permettant d'étudier l'extension volumique de la lumière selon sa polarisation. Il s'agit d'un outil de modélisation complet permettant de relier la mesure polarimétrique en surface au volume effectivement sondé, ce qui permet de filtrer le signal mesuré et de remonter à la source de perturbation de ce signal.
3. L'exploitation de cet outil pour l'évaluation de la méthode d'imagerie sélective proposée. Comme on le verra, il nous a permis d'effectuer une étude complète sur l'extension en profondeur du signal lumineux polarisé, détecté en surface, en fonction des propriétés optiques du milieu. L'éventail des propriétés optiques est très large, ce qui fait de cette étude la plus complète que l'on puisse trouver dans la littérature (Rehn et al., 2013).

Les applications potentielles de ces travaux sont donc l'amélioration du dépistage d'affections superficielles, en proposant une méthode permettant d'évaluer le degré d'invasivité avec une information sur l'extension de l'affection en profondeur. A titre d'exemple, la technique présenterait de nombreuses applications dans le domaine de l'examen des cancers cutanés, ou autres types d'affections telles que le contrôle des doses d'irradiation lors de certaines thérapies, le cancer du col de l'utérus ou l'examen de l'œil. La technique a par ailleurs déjà été testée au laboratoire avec succès *in vivo* pour l'examen du cortex cérébral du rat (Da Silva et al., 2012).

Ce travail s'inscrit dans deux collaborations étroites entre l'équipe DiMABio de l'Institut Fresnel (UMR 7249, CNRS, AMU, ECM) et, d'une part, essentiellement pour la partie théorique, A. Planat-Chrétien, M. Berger et J.-M. Dinten du laboratoire LISA du CEA-LETI MINATEC, avec le financement de la thèse de S. Rehn ; et, d'autre part, pour la partie instrumentale et l'expérimentation animale, I. Vanzetta de l'INT (UMR 7289, CNRS, AMU), avec le financement du stage de Master de P. Stahl.

## I. PROPRIETES DE LA LUMIERE POLARISEE

L'approche classique pour décrire la polarisation de la lumière passe par le formalisme électromagnétique. Nous donnons ici simplement les définitions et notations essentielles. Les références principales de cette partie sont essentiellement (Boulvert 2006; Tuchin, Wang, and Zimnyakov 2006).

### FORMALISME DE JONES : L'ELLIPSE DE POLARISATION



Le champ électrique peut être exprimé avec le vecteur de Jones décrivant les composantes horizontale  $E_{0x}$  et verticale  $E_{0y}$ . Le déphasage  $\varphi$  décrit le retard de la composante verticale par rapport à la composante horizontale du champ électrique (Figure 56). La polarisation résultante est décrite par le vecteur de Jones qui est ici normalisé pour obtenir une intensité totale unitaire :

$$\vec{V} = \frac{1}{\sqrt{E_{0x}^2 + E_{0y}^2}} \begin{bmatrix} E_{0x} \\ E_{0y} e^{i\varphi} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \cos(\nu) \\ \sin(\nu) e^{i\varphi} \end{bmatrix}$$

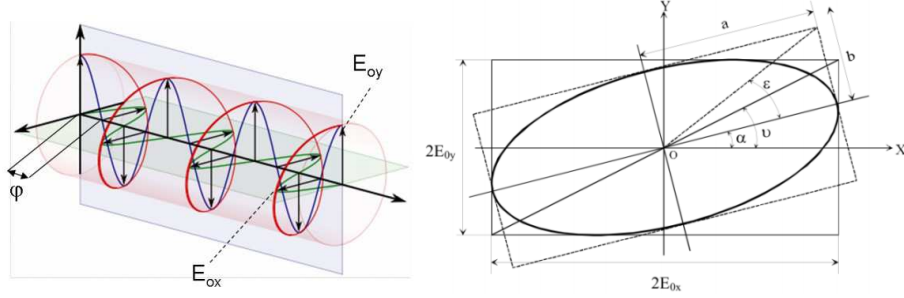


Figure 56: Gauche, représentation du champ électrique avec ses composantes horizontale (vert) et verticale (bleu), la résultante est en rouge. Droite : Ellipse de polarisation, notations (Boulvert 2006) : angle diagonal  $\nu$ , angle azimutal  $\alpha$  et ellipticité  $\epsilon$ .

Quand on observe uniquement l'amplitude résultante des deux composantes, l'extrémité du vecteur de Jones décrit une ellipse dont la diagonale (définie par l'angle  $\nu$ , Figure 56, droite) est liée aux amplitudes du champ électrique selon la relation  $\tan \nu = E_{0y} / E_{0x}$ . Le lien entre le déphasage et les angles de l'ellipse de polarisation sont reliés par les relations suivantes:

$$\begin{aligned} \cos(2\nu) &= \cos(2\epsilon) \cos(2\alpha) \\ \sin(2\nu) \cos(\varphi) &= \cos(2\epsilon) \sin(2\alpha) \\ \sin(2\nu) \sin(\varphi) &= \sin(2\epsilon) \end{aligned}$$

## FORMALISME DE STOKES

Le vecteur de Stokes  $S$  est très utile pour décrire des phénomènes comme la dépolarisation de la lumière ou la lumière partiellement polarisée. Dans la littérature on trouve différentes notations pour le vecteur de Stokes et ses quatre composantes. Nous retenons celle de Tuchin *et al.* (Tuchin, Wang, and Zimnyakov 2006) :

$$S = \begin{pmatrix} I \\ Q \\ U \\ V \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} E_{0x}^2 + E_{0y}^2 \\ E_{0x}^2 - E_{0y}^2 \\ 2E_{0x}E_{0y} \cos(\varphi) \\ 2E_{0x}E_{0y} \sin(\varphi) \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} I_H + I_V \\ I_H - I_V \\ I_{+45^\circ} - I_{-45^\circ} \\ I_R - I_L \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 1 \\ \cos(2\nu) \\ \sin(2\nu) \cos(\varphi) \\ \sin(2\nu) \sin(\varphi) \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 1 \\ \cos(2\epsilon) \cos(2\alpha) \\ \cos(2\epsilon) \sin(2\alpha) \\ \sin(2\epsilon) \end{pmatrix}$$

où,  $I$  décrit l'intensité totale de l'onde optique,  $Q$  la différence d'intensité entre la partie polarisée horizontalement ( $I_H$ ) et verticalement ( $I_V$ ),  $U$  la différence d'intensité entre la partie polarisée linéairement à  $+45^\circ$  ( $I_{+45^\circ}$ ) et  $-45^\circ$  ( $I_{-45^\circ}$ ) et  $V$  la différence d'intensité entre la partie polarisée circulairement à droite ( $I_R$ ) et la partie polarisée circulairement à gauche ( $I_L$ ). Pour décrire les états de polarisation elliptiques (cas général), il est plus simple d'exprimer le vecteur de Stokes en fonction des angles de l'ellipse de polarisation introduits précédemment. Le vecteur de Stokes (exemples Tableau 5) est généralement normalisé par l'intensité totale  $I$  : la composante  $I$  du vecteur de Stokes est égale 1, les quatre composantes peuvent avoir des valeurs entre -1 et 1 pour représenter l'état de polarisation correspondant.

Vecteur de Stokes	Etat de polarisation
$S=(1,0,0,0)^T$	Sans polarisation
$S=(1,1,0,0)^T$	Linéaire horizontale
$S=(1,-1,0,0)^T$	Linéaire verticale
$S=(1,0,1,0)^T$	Linéaire à 45°
$S=(1,0,-1,0)^T$	Linéaire à -45°
$S=(1,0,0,1)^T$	Circulaire droite
$S=(1,0,0,-1)^T$	Circulaire gauche

Tableau 5: Exemples de vecteurs de Stokes en fonction de la polarisation.

## II. TECHNIQUES D'IMAGERIE POLARIMETRIQUES DES TISSUS BIOLOGIQUES

Je présente ici un état de l'art, non exhaustif, des diverses techniques polarimétriques utilisées pour l'examen des tissus biologiques, ainsi que la réflexion qui nous a conduits à opter pour l'utilisation de la polarisation circulaire et elliptique pour remonter à une information sur la profondeur.

### NOTION DE « MEMOIRE » DE POLARISATION

La propagation de la lumière en milieu diffusant s'accompagne d'une perte de polarisation liée aux interactions multiples entre le champ électromagnétique et les diffuseurs, impliquant des changements d'amplitude et de direction du champ (Tuchin 2000; MacKintosh et al. 1989; Bicout and Brosseau 1992; Bicout et al. 1994; Yoo and Alfano 1989). De la même façon que pour le filtrage temporel, l'utilisation de filtres polarisants permet néanmoins, jusqu'à un certain point, de sélectionner les photons dont l'état de polarisation est maintenu. On comprend bien qu'au-delà d'une certaine épaisseur optique, liée au nombre d'événements de diffusion, à l'anisotropie de diffusion, et bien sûr à l'absorption, les photons auront totalement perdu la mémoire de leur polarisation initiale : on ne détectera plus de photons au travers de ces filtres.

(MacKintosh et al. 1989) présentent une discussion sur la notion de "mémoire de polarisation" de différents types de polarisation. Cet effet décrit la façon dont une polarisation initiale est maintenue lors de la variation du nombre d'événements de diffusion, et ceci pour une polarisation donnée. Il est notamment montré que cet effet dépend beaucoup de la *taille du diffuseur*, autrement dit du coefficient d'anisotropie  $g$ . Les auteurs montrent que des milieux constitués de diffuseurs de fort diamètre (grand devant la longueur d'onde, diffusion de Mie), la polarisation circulaire se maintient sur des distances plus grandes que la polarisation linéaire. Si les particules sont très petites (diffusion Rayleigh), c'est l'inverse qui se produit, du fait des nombreux changements d'hélicité lors de multiples réflexions de la polarisation circulaire, au-delà d'un angle de diffusion limite l'hélicité change de sens. Cet angle critique est d'autant plus grand que la diffusion est anisotrope ( $g$  grand), d'où la plus forte probabilité de conservation de la polarisation circulaire pour des milieux à diffusion anisotrope.

Ce concept a été utilisé dans divers travaux de recherche pour la localisation ou l'analyse de régions spécifiques dans des échantillons. (Schmitt, Gandjbakhche, and Bonner 1992) utilisent ces avantages dans un système d'imagerie en transmission, utilisant une illumination en balayage ponctuelle, dans lequel seule la lumière polarisée circulairement est détectée. Le but ici est de réduire la contribution des photons multiples diffusés, dont la trajectoire s'écarte de la trajectoire balistique, afin d'améliorer la détection de structures absorbantes subsurfaciques. Pour une gamme variée de propriétés optiques, ils montrent que le DOP est

plus faible pour la polarisation linéaire. Néanmoins, la résolution obtenue en polarisation linéaire est meilleure du faite de la propagation rectiligne des photons, avec cependant un très faible rapport signal-à-bruit. Dans le but d'améliorer cela, (Emile, Bretenaker, and Floch 1996) proposent de moduler la polarisation linéaire et d'effectuer une détection en mode lock-in : ils montrent que le contraste peut être ainsi amélioré d'un facteur 5. Ces méthodes sont destinées à des analyses en transmission.

Morgan et Ridgeway (Morgan and Ridgway 2000) ont mené des recherches sur le maintien de polarisation en géométrie de réflexion plus adaptée à l'étude de tissus biologiques. Ils montrent que le DOP maximal en polarisation linéaire est obtenu lorsque l'épaisseur optique est minimale : augmenter la diffusion résulte en une diminution de DOP. En revanche, pour la polarisation circulaire, le pic de DOP est obtenu au-delà du minimum de l'épaisseur optique, montrant ainsi qu'une détection basée sur la sélection de la polarisation circulaire sondera une région sub-surfacique, hors de la surface elle-même.

Pour aller plus loin dans l'examen du comportement de différents états de polarisation et pour confirmer le raisonnement derrière l'effet de mémoire de polarisation présenté par (MacKintosh et al. 1989), (Hielscher et al. 1997) et (Rakovic et al. 1999) ont analysé la répartition spatiale bidimensionnelle de la lumière rétrodiffusée. Ils vérifient l'effet de la taille des diffuseurs sur la polarisation de la lumière rétrodiffusée.

## IMAGERIE BIOMEDICALE PAR FILTRAGE POLARIMETRIQUE

L'utilisation de la polarisation de la lumière pour le sondage des tissus biologiques est l'une des techniques les plus utilisées pour l'examen des tissus superficiels (dermatologie, gynécologie, oncologie, examens bucco-dentaires...). Globalement, ces techniques sont basées sur le fait que la polarisation est perdue selon les propriétés de diffusion des tissus. La lumière rétrodiffusée est ainsi un mélange de lumière dépolarisée et polarisée, ayant subi un faible nombre d'événements de diffusion. La lumière polarisée peut être extraite par une simple méthode de soustraction d'images (Jacques, Roman, and Lee 2000). La Figure 57 illustre l'apport de l'imagerie polarimétrique dans la détection de contours d'un carcinome. La technique d'imagerie polarimétrique permet de mieux guider le chirurgien, pour une résection de tumeur moins invasive, favorisant la cicatrisation, et plus spécifique pour faire en sorte d'éliminer toute cellule cancéreuse.

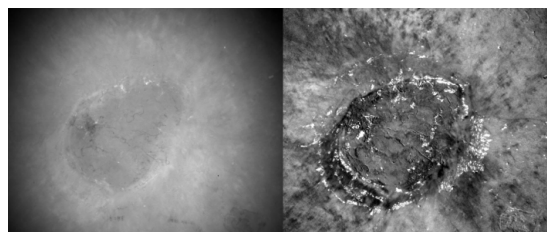


Figure 57: Photos d'un carcinome épidermoïde: à gauche la photo en lumière non polarisée et à droite la photo en lumière polarisée (Jacques, Ramella-Roman, and Lee 2002).

Le filtrage en polarisation linéaire (Linear polarization gating en Anglais) est le plus populaire (Schmitt, Gandjbakhche, and Bonner 1992; Demos and Alfano 1997; Demos, Radousky, and Alfano 2000; Jacques, Roman, and Lee 2000) mais se limite en terme d'application à l'exaltation de contraste pour l'examen surfacique des tissus. La technique a été sophistiquée par le développement de systèmes d'imagerie de Mueller. Le champ d'applications

de ces systèmes est la caractérisation optique des tissus biologiques (Falconet et al. 2008), le diagnostic des cancers de la peau, du côlon (Antonelli et al.), du col de l'utérus (Anastasiadou et al. 2008), de l'œsophage. Pour un examen en profondeur, Morgan et al. (Morgan and Stockford 2003) ont introduit l'utilisation de la polarisation circulaire et ont démontré que la soustraction des images prises en configuration d'illumination/détection co-circulaire des images prises entre polariseurs linéaires croisés permettait à la fois l'extraction de la lumière faiblement diffusée et l'élimination des réflexions spéculaires. Du fait d'effets de mémoires de polarisation (Mackintosh et al. 1989; Morgan and Ridgway 2000) discutés plus loin, la profondeur sondée par la polarisation circulaire est plus grande que pour la polarisation linéaire. Cette technique permet donc de sonder les tissus plus profondément que la polarisation linéaire.

C'est précisément cette approche que nous avons choisie de développer. Même si la profondeur de pénétration de la lumière polarisée est limitée, cette technique est adaptée à notre étude car elle répond au cahier des charges : elle permet un examen des tissus sur une région d'intérêt large, avec une instrumentation à bas coût, l'utilisation des marqueurs est possible mais non obligatoire et le contact avec le tissu n'est pas nécessaire pour l'examen.

A l'heure actuelle, les techniques basées sur l'analyse polarimétrique de la lumière rétrodiffusée sont largement réservées à un examen superficiel. Deux approches sont mises en œuvre: i) la première consiste à effectuer une mesure entre polariseurs linéaires croisés afin de s'affranchir du spéculaire et sonder plus profondément ; ii) l'autre au contraire consiste à effectuer la soustraction de deux mesures en polarisations rectilignes parallèles et perpendiculaires pour sélectionner exclusivement les photons spéculaires et s'affranchir de la perturbation du fond diffusant. Dans cette dernière configuration, on peut sophistication l'analyse par l'imagerie des seize composantes de la matrice de Mueller décrivant l'état de polarisation du signal mesuré, ce qui permet de rendre compte de modifications de propriétés optiques des tissus, tels que des effets de dépolariation, ou de biréfringence.

---

#### **- IMAGERIE DE CONTRASTE: EXAMEN DES SURFACES**

Ceci a été réalisé par (Demos and Alfano 1997) en lumière linéairement polarisée. Des images du dos de la main ont été acquises, hors axe pour s'affranchir de la réflexion spéculaire, à l'aide d'un analyseur en position parallèle et perpendiculaire au plan de polarisation. Une simple soustraction entre les canaux co-polarisés et cross-polarisés montrent la possibilité d'isoler la contribution surfacique et ou faiblement sub-surfacique de la contribution diffuse des grandes profondeurs. Le contraste de l'image de surface est ainsi amélioré d'un facteur 4.5.

---

#### **- IMAGERIE SUB-SURFACIQUE**

Cependant, lorsqu'il s'agit d'examiner des structures sub-surfaciques, on souhaite précisément s'affranchir de cette contribution surfacique. Une technique largement utilisée, suggérée initialement par (Anderson 1991) pour l'examen des tissus, pour s'affranchir de la réflexion spéculaire consiste à effectuer une détection cross-linéaire de la lumière. Appliquée à l'examen de la peau, les mesures réalisées sont sensibles à des profondeurs *supérieures* à 300  $\mu\text{m}$  sous la surface comme démontré par Jacques et al (Jacques, Ramella-Roman, and Lee 2002).

Les études de (Jacques, Ramella-Roman, and Lee 2002; Jacques, Ramella-Roman, and Lee 2000) portent sur le filtrage de la composante due à la diffusion multiple comme dans

(Demos and Alfano 1997) mais également de la réflexion spéculaire des échantillons, dans le but d'obtenir une sensibilité aux zones sub-surfaciques. L'extraction de la lumière polarisée est toujours obtenue en soustrayant les images co- et cross-polarisées (Demos and Alfano 1997). La contribution de la surface est néanmoins supprimée par l'application d'une plaque de verre avec un liquide d'adaptation d'indice et une détection hors-axe. De plus, ils cherchent à s'affranchir de l'inhomogénéité de l'illumination et des effets dus à la pigmentation en normalisant les images par l'image prise en lumière non-polarisée. Ceci permet d'obtenir une image des variations de diffusion, mais supprime également toute variation liée à l'absorption, ce qui est important lorsqu'il s'agit d'examiner la pigmentation de la peau par exemple.

L'imagerie de polarisation a également été utilisée pour effectuer de la spectroscopie localisée par (Backman et al. 1999) et (Bartlett and Jiang 2002) afin d'extraire des signatures surfaciques. La technique utilisée dans la présente étude offre potentiellement la possibilité d'effectuer une spectroscopie sub-surfacique.

---

#### **- IMAGERIE POLARIMETRIQUE POUR LA DETECTION DE STRUCTURES**

---

Les études présentées dans ce paragraphe font l'hypothèse de tissus passifs du point de vue de la polarisation. Or, du fait de l'aspect structuré de certains tissus (peau, muscles), certains tissus sont biréfringents. Cet effet est dû à la nature fibreuse du collagène. Il est particulièrement intéressant dans la mesure où l'alignement de l'axe rapide de l'échantillon (Hecht 1998) avec l'axe du polariseur incident permet de déterminer le comportement en polarisation de l'échantillon. La propagation de la lumière polarisée circulairement en milieux biréfringents est également particulièrement intéressante dans la mesure où la symétrie circulaire est modifiée. Ces propriétés sont discutées par (Wang and Wang 2001) à travers des simulations Monte Carlo résolues en temps. (de Boer et al. 1997) présentent un examen de la biréfringence de tissus examinés in vitro à l'aide d'un OCT circulairement polarisés. Plus précisément, (Yang et al. 2003) montrent des régions de variation de la biréfringence à l'aide d'un balayage en profondeur.

---

#### **- BILAN:**

---

Après examen des principales techniques d'imagerie polarimétrique, on peut en conclure qu'elles ne satisfont pas l'étude en profondeur de tissus, à l'échelle mésoscopique (zones sub-surfaciques). Les techniques de résolution temporelle pourraient également apporter une solution dans la sélection du trajet des photons, mais c'est une technologie relativement chère (utilisation de détecteurs hautement résolus compte-tenu des faibles trajets).

En matière d'examen polarimétrique, il y a globalement deux voies d'examen: d'une part, les techniques locales qui permettent une localisation et une caractérisation à travers les propriétés optiques; d'autre part, les techniques d'imagerie de surface.

Parmi ces techniques, la technique développée par (Morgan and Stockford 2003), décrite en détail ci-après, nous paraît particulièrement intéressante dans la mesure où elle permet de s'affranchir à la fois de la réflexion spéculaire de l'échantillon, examiné sans préparation particulière comme dans (Jacques, Ramella-Roman, and Lee 2002; Jacques, Ramella-Roman, and Lee 2000), et de la diffusion multiple. L'utilisation de la lumière polarisée

circulairement permet de sonder les tissus sur des profondeurs plus importantes que la polarisation linéaire.

### III. PRINCIPE DU FILTRAGE POLARIMETRIQUE POUR LE SONDAGE EN PROFONDEUR DES TISSUS BIOLOGIQUES

Les techniques d'imagerie polarimétrique permettent donc de conserver la souplesse d'utilisation d'une imagerie de réflectance classique mais offrent la possibilité d'un filtrage de la lumière détectée en fonction de la longueur des trajets parcourus. Ces différentes techniques, essentiellement utilisées en rétrodiffusion, sont largement réservées à un examen superficiel. En résumé, il existe deux types d'examen : l'un consiste à effectuer la soustraction de deux mesures en polarisations linéaires perpendiculaires pour i) s'affranchir du spéculaire et sonder plus profondément ; ii) pour au contraire sélectionner les photons spéculaires. A notre connaissance seule l'approche de Morgan&Stockford permet d'accéder à une information sur la profondeur sondée. Elle est ici décrite de manière approfondie et nous présentons une discussion éclairée de ces travaux nous permettant de cerner les limites de la méthode et la justification de notre approche.

Morgan et Stockford (Morgan and Stockford 2003) utilisent dans leur technique de sondage en profondeur une source polarisée soit linéairement soit circulairement pour illuminer le milieu diffus. La détection de la lumière rétrodiffusée se fait d'une manière permettant de sélectionner les photons ayant maintenu leur polarisation. L'image co-polarisée et contre-polarisée doit être analysée à cette fin, ce qui conduit à un protocole d'analyse de deux canaux linéaires et deux canaux circulaires :

Canal	Illumination	Détection	Terminologie
1	Linéaire (Horizontal)	Linéaire (Horizontal)	Co-linéaire
2	Linéaire (Horizontal)	Linéaire (Vertical)	Cross-linéaire
3	Circulaire (Droite)	Circulaire (Droite)	Co-circulaire
4	Circulaire (Droite)	Circulaire (Gauche)	Contre-circulaire

Tableau 6: Protocole d'analyse pour le sondage en profondeur.

#### PRINCIPE D'EXTRACTION DE LA LUMIERE POLARISEE

En rétrodiffusion, la lumière détectée présente deux composantes distinctes: celle dont l'état de polarisation est maintenu et celle qui est totalement dépolarisée du fait du grand nombre d'événements de diffusion. De manière générale, celle dont l'état de polarisation est maintenu aura sondé un volume superficiel, précisément la zone qui nous intéresse. Nous souhaitons donc isoler cette contribution. Cependant, les images obtenues en co-linéaire (canal 1) et cross-linéaire (canal 2), font apparaître une différence très faible, montrant que la lumière multi-diffusée est la composante principale dans les canaux de mesures de lumière polarisée (Figure 58).

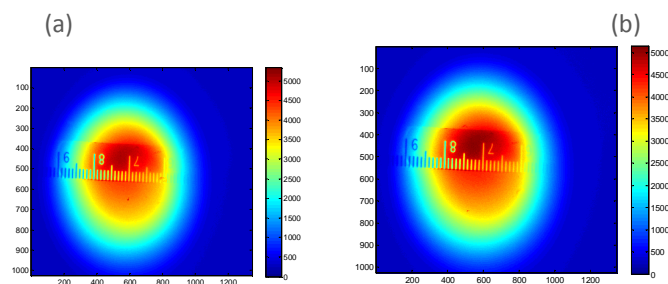


Figure 58: Mesures en rétrodiffusion d'un milieu diffusant en mode co-linéaire (a) et en contre-linéaire (b).

Les Figure 59 et Figure 60 illustrent schématiquement le filtrage de la lumière linéairement polarisée.

- Le canal 1 (co-linéaire) collecte : i) les photons qui ont voyagé dans les faibles profondeurs en gardant leur état de polarisation initial, au travers de diffusions « vers l'avant » (Figure 59A): c'est précisément ces photons que l'on souhaite extraire ; ii) mais est également présente dans ce canal une composante due à la diffusion multiple, dont l'état de polarisation est aléatoire, et dont une partie se retrouve avec une composante linéaire dans le même plan de polarisation que l'illumination.

- Le canal 2 (cross-linéaire) rejette optiquement tous les photons dont l'état de polarisation est maintenu: il ne reste que la composante due à la diffusion multiple, de polarisation aléatoire (Figure 59 B), et dont une partie, statistiquement identique à la précédente, se retrouve avec une composante linéaire orthogonale au plan de polarisation de l'illumination.

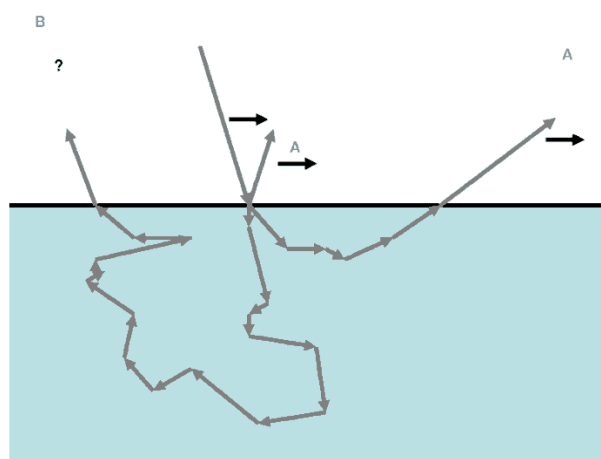


Figure 59: La lumière rétrodiffusée par un échantillon illuminé en lumière polarisée linéairement se divise en deux catégories distinctes : (A) la lumière qui a maintenu son état de polarisation après un faible nombre de diffusions; (B) la lumière multidiffusée avec un état de polarisation aléatoire.

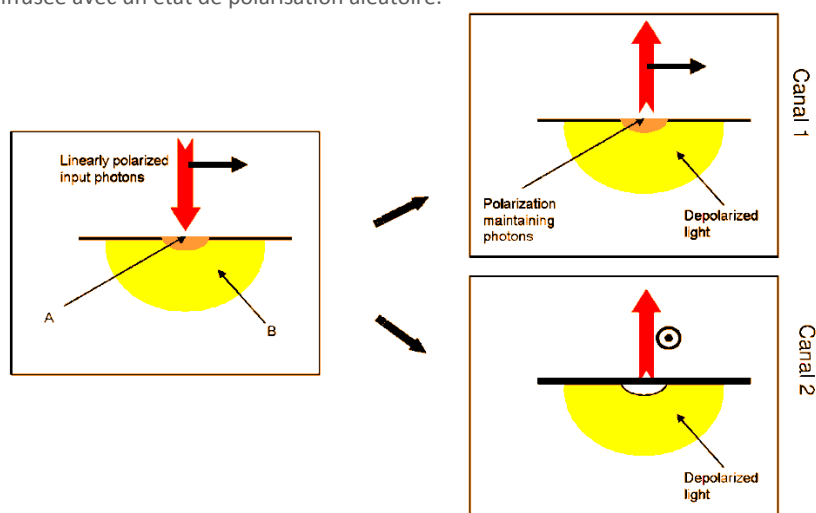


Figure 60: La lumière rétrodiffusée par un échantillon illuminé en lumière polarisée linéairement se divise en deux catégories distinctes : (A) la lumière qui a maintenu son état de polarisation ; (B) la lumière multidiffusée dépolarisée (avec un état de polarisation aléatoire). La discrimination obtenue avec le canal de mesure 1 collecte la lumière de catégorie A et statistiquement 50% de la lumière de catégorie B. Le canal 2 contient donc les autres 50% de la catégorie B.

Du fait de la nature aléatoire de la diffusion multiple, l'intensité est distribuée de manière identique entre les canaux 1 et 2. Par conséquent, si l'on soustrait les mesures des deux canaux, la composante résultante est la lumière qui a maintenu son état de polarisation initial,

et qui a donc sondé la zone superficielle d'intérêt. Pour préciser les choses, on peut écrire de manière simplifiée les relations suivantes :

$$\begin{aligned} I_{polar\_lin} &= I_{ch1} - I_{ch2} \\ &= (I_{polar\_maintenue} + I_{multiple}) - I_{multiple} \\ &= I_{polar\_maintenue} \end{aligned}$$

Cette technique est la technique standard, largement utilisée et décrite dans la littérature (Demos and Alfano 1997; Jacques, Ramella-Roman, and Lee 2000; Demos and Alfano 1996; Walker, Chang, and Hopcraft 2000; Morgan, Khong, and Somekh 1997).

L'extraction de la lumière polarisée circulairement ayant maintenue son état de polarisation initiale est beaucoup moins triviale. Les différentes catégories de lumières présentent dans les canaux 3 et 4 sont illustrées dans les Figure 61 et Figure 62.

Lorsque l'illumination est circulairement polarisée, la description des canaux de mesures est un peu plus complexe. Une séquence d'événements de diffusion vers l'avant, permettra au photon de garder son état de polarisation initial (Figure 61B), cette lumière sera détectée dans le canal 3, avec également une partie de la lumière aléatoirement polarisée (statistiquement 50%). L'autre moitié est détectée dans le canal 4, avec toutefois la lumière spéculaire ayant subi un changement d'hélicité par réflexion. Ceci rend l'extraction exclusive de la composante polarisée circulairement impossible si l'on procède par analogie avec le linéaire :

$$\begin{aligned} I_{polar\_circ} &= I_{ch3} - I_{ch4} \\ &= (I_{polar\_maintenue} + I_{multiple}) - (I_{spéculaire} + I_{multiple}) \\ &= I_{polar\_maintenue} - I_{spéculaire} \end{aligned}$$

Pour s'affranchir de la pollution spéculaire, les auteurs font une approximation: la lumière multidiffusée, polarisée initialement linéairement, est égale à la lumière multidiffusée, polarisée initialement circulairement. En réalité, cette contribution n'est pas identique et demanderait une étude plus approfondie. La justification donnée est que, en terme de simulation où l'on peut artificiellement éliminer la contribution spéculaire, si l'on ne s'intéresse qu'à la profondeur de pénétration des photons, les résultats sont les mêmes, seule change l'intensité du signal diffusé. Ceci est difficilement vérifiable expérimentalement et reste sujet à discussion. Néanmoins, dans cette approximation, on peut écrire :

$$\begin{aligned} I_{polar\_circ} &= I_{ch3} - I_{ch2} = (I_{polar\_maintenue} + I_{multiple\_circ}) - (I_{multiple\_lin}) \\ I_{multiple\_circ} &\approx I_{multiple\_lin} \\ I_{polar\_circ} &= I_{polar\_maintenue} \end{aligned}$$

Les mesures du canal 4 ne seront donc pas nécessaires.



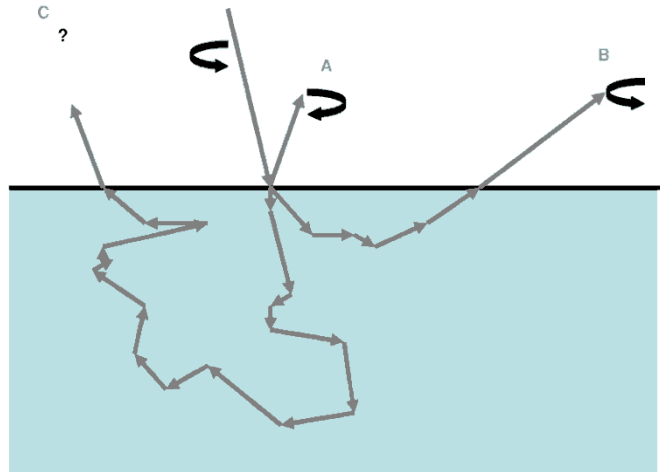


Figure 61: La lumière rétrodiffusée par un échantillon illuminé en lumière polarisée circulairement se divise en trois catégories distinctes : A-la lumière ayant subi une rétrodiffusion simple (réflexion spéculaire essentiellement), ce qui résulte en un changement d'hélicité ; B-la lumière dont la polarisation est maintenue après une série de diffusions vers l'avant ; C- la lumière multidiffusée dépolarisée (avec un état de polarisation aléatoire).

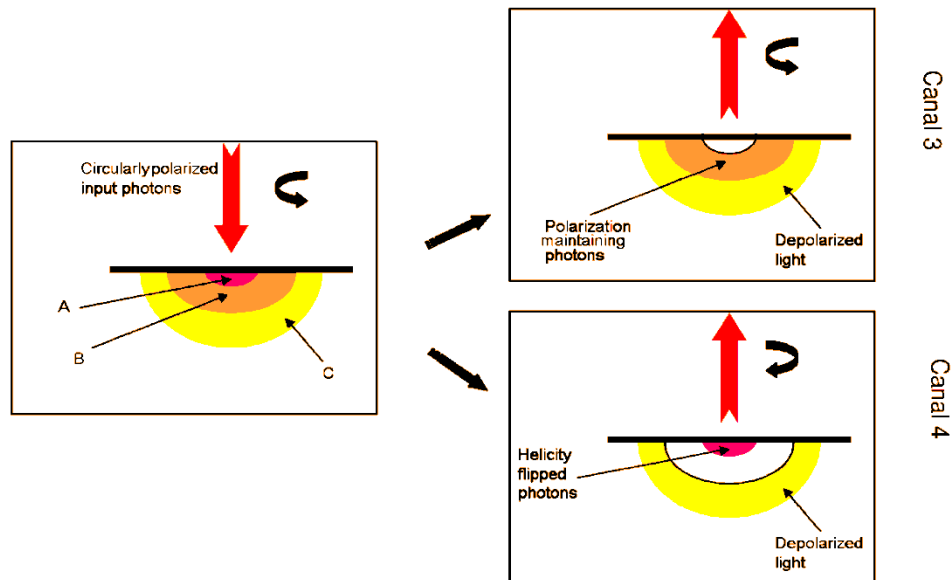


Figure 62: La lumière rétrodiffusée par un échantillon illuminé en lumière polarisée circulairement se divise en trois catégories distinctes : A-la lumière ayant subi une rétrodiffusion simple (réflexion spéculaire essentiellement), ce qui résulte en un changement d'hélicité ; B-la lumière dont la polarisation est maintenue après une série de diffusions vers l'avant ; C- la lumière multidiffusée dépolarisée (avec un état de polarisation aléatoire). La discrimination obtenue avec le canal de mesure 3 collecte la lumière de catégorie B et statistiquement 50% de la lumière de catégorie C. Le canal 4 contient donc les autres 50% de la catégorie C et la lumière de catégorie A avec changement d'hélicité.

## INTRODUCTION DE LA POLARISATION ELLIPTIQUE POUR UN SONDAGE SELECTIF SELON LA PROFONDEUR

Nous proposons à présent de sophistication cette technique en introduisant la polarisation elliptique pour un sondage continu entre la surface du milieu (ellipticité nulle ou polarisation linéaire) et une profondeur maximale définie par la polarisation circulaire. Ceci a été proposé et vérifié expérimentalement sur milieux fantômes par Morgan (Morgan and Ridgway 2000) et testé *in vivo* au laboratoire pour l'imagerie du cortex cérébral du rat, l'article publié dans Biomedical Optics Express est reproduit ci-après (Da Silva, Deumie, and Vanzetta 2012).

# Elliptically polarized light for depth resolved optical imaging

Anabela Da Silva,<sup>\*,1</sup> Carole Deumié,<sup>1</sup> and Ivo Vanzetta<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Institut Fresnel, CNRS UMR 7249, Aix-Marseille Université, Ecole Centrale Marseille, Campus de St Jérôme, 13013 Marseille, France

<sup>2</sup>Institut des Neurosciences de la Timone, CNRS UMR 7289, Aix-Marseille Université, Campus Santé Timone 13385 Marseille Cedex 05, France

\*anabela.dasilva@fresnel.fr

**Abstract:** It is shown that using elliptically polarized light permits selecting well-defined subsurface volumes in a turbid medium. This suggests the possibility of probing biological tissues at specific depths. First, we present the method and preliminary results obtained on an Intralipid phantom. We next report on the method's performance on a biological phantom (chicken breast) and, finally, on the exposed cortex of an anesthetized rat.

© 2012 Optical Society of America

**OCIS codes:** (170.3660) Light propagation in tissues; (170.7050) Turbid media; (170.3880) Medical and biological imaging; (110.5405) Polarimetric imaging.

## References and links

1. A. Grinvald, E. Lieke, R. D. Frostig, C. D. Gilbert, and T. N. Wiesel, "Functional architecture of cortex revealed by optical imaging of intrinsic signals," *Nature* **324**(6095), 361–364 (1986).
2. A. Grinvald, T. Bonhoeffer, I. Vanzetta, A. Pollack, E. Aloni, R. Ofri, and D. Nelson, "High-resolution functional optical imaging: from the neocortex to the eye," *Ophthalmol. Clin. North Am.* **17**(1), 53–67 (2004).
3. B. S. Sorg, B. J. Moeller, O. Donovan, Y. T. Cao, and M. W. Dewhirst, "Hyperspectral imaging of hemoglobin saturation in tumor microvasculature and tumor hypoxia development," *J. Biomed. Opt.* **10**(4), 044004 (2005).
4. W. Steller, J. Eienkel, L. C. Horn, U. D. Braumann, H. Binder, R. Salzer, and C. Krafft, "Delimitation of squamous cell cervical carcinoma using infrared microspectroscopic imaging," *Anal. Bioanal. Chem.* **384**(1), 145–154 (2006).
5. V. V. Tuchin, *Tissue Optics* (SPIE Press, Bellingham, WA, USA, 2000).
6. F. C. MacKintosh, J. X. Zhu, D. J. Pine, and D. A. Weitz, "Polarization memory of multiply scattered light," *Phys. Rev. B Condens. Matter* **40**(13), 9342–9345 (1989).
7. D. Bicoût and C. Brosseau, "Multiply scattered waves through a spatially random medium: entropy production and depolarization," *J. Phys. I* **2**(11), 2047–2063 (1992).
8. D. Bicoût, C. Brosseau, A. S. Martinez, and J. M. Schmitt, "Depolarization of multiply scattered waves by spherical diffusers: Influence of the size parameter," *Phys. Rev. E Stat. Phys. Plasmas Fluids Relat. Interdiscip. Topics* **49**(2), 1767–1770 (1994).
9. K. M. Yoo and R. R. Alfano, "Time resolved depolarization of multiple backscattered light from random media," *Phys. Lett. A* **142**(8–9), 531–536 (1989).
10. R. R. Anderson, "Polarized light examination and photography of the skin," *Arch. Dermatol.* **127**(7), 1000–1005 (1991).
11. S. L. Jacques, J. C. Ramella-Roman, and K. Lee, "Imaging skin pathology with polarized light," *J. Biomed. Opt.* **7**(3), 329–340 (2002).
12. S. G. Demos and R. R. Alfano, "Optical polarization imaging," *Appl. Opt.* **36**(1), 150–155 (1997).
13. A. P. Sviridov, V. Chernomordik, M. Hassan, A. C. Boccara, A. Russo, P. Smith, and A. Gandjbakhche, "Enhancement of hidden structures of early skin fibrosis using polarization degree patterns and Pearson correlation analysis," *J. Biomed. Opt.* **10**(5), 051706 (2005).
14. J. Falconet, R. Sablong, E. Perrin, F. Jaillon, and H. Saint-Jalmes, "Analysis of simulated and experimental backscattered images of turbid media in linearly polarized light: estimation of the anisotropy factor," *Appl. Opt.* **47**(31), 5811–5820 (2008).
15. V. Backman, R. Gurjar, K. Badizadegan, I. Itzkan, R. R. Dasari, L. T. Perelman, and M. S. Feld, "Polarized light scattering spectroscopy for quantitative measurement of epithelial cellular structures in situ," *IEEE J. Sel. Top. Quantum Electron.* **5**(4), 1019–1026 (1999).
16. M. Bartlett and H. Jiang, "Measurement of particle size distribution in multilayered skin phantoms using polarized light spectroscopy," *Phys. Rev. E Stat. Nonlin. Soft Matter Phys.* **65**(3), 031906 (2002).
17. A. Sviridov, V. Chernomordik, M. Hassan, A. Russo, A. Eidsath, P. Smith, and A. H. Gandjbakhche, "Intensity profiles of linearly polarized light backscattered from skin and tissue-like phantoms," *J. Biomed. Opt.* **10**(1), 014012 (2005).

18. S. P. Morgan and I. M. Stockford, "Surface-reflection elimination in polarization imaging of superficial tissue," *Opt. Lett.* **28**(2), 114–116 (2003).
  19. S. L. Jacques, J. R. Roman, and K. Lee, "Imaging superficial tissues with polarized light," *Lasers Surg. Med.* **26**(2), 119–129 (2000).
  20. J. M. Schmitt, A. H. Gandjbakhche, and R. F. Bonner, "Use of polarized light to discriminate short-path photons in a multiply scattering medium," *Appl. Opt.* **31**(30), 6535–6546 (1992).
  21. S. P. Morgan and M. E. Ridgway, "Polarization properties of light backscattered from a two layer scattering medium," *Opt. Express* **7**(12), 395–402 (2000).
  22. L. Gobin, L. Blanchot, and H. Saint-Jalmes, "Integrating the digitized backscattered image to measure absorption and reduced-scattering coefficients *in vivo*," *Appl. Opt.* **38**(19), 4217–4227 (1999).
  23. H. J. van Staveren, C. J. M. Moes, J. van Marie, S. A. Prahl, and M. J. C. van Gemert, "Light scattering in Intralipid-10% in the wavelength range of 400–1100 nm," *Appl. Opt.* **31**(30), 4507–4514 (1991).
- 

## 1. Introduction

2D optical imaging has proven a valuable tool for functional exploration in biological research such as in neuroscience (imaging the exposed cortex), ophthalmology (retinal imaging), or oncology (skin, uterus cancers detection and monitoring) [1–4]. Yet, there remains concern over the fact that images are two-dimensional (2D) projections of a combination of signals from superficial and deeper tissue layers, with an *a priori* unknown proportion. Conventional optical imaging of intrinsic signals (IOS) provides high-resolution functional 2D images, by monitoring changes in absorption of intrinsic chromophores. However, such systems do not allow depth discrimination. As *in vivo* IOS is usually performed under reflectance geometry [5], illumination sources and detectors belong to the same half-space. Under these conditions, these imaging systems suffer from (i) blurring due to mirror reflections at the interface; (ii) loss of depth information about the signals' origin, due to an indiscriminate collection of all photons, irrespective of their pathlengths. To tackle the first problem, one can use linear polarization illumination with cross-polarization detection, but in that case, the unpolarized backscattered detected photons are those who have undergone a large number of scattering events and hence a large proportion is likely to come from deep locations. Moreover, the selective detection of photons stemming from the surface or other specific depths remains a challenge.

The technique exposed hereafter is based on a polarimetric selection of the photons. Intuitively, when travelling through the medium, polarized photons will maintain their state of polarization to a different extent, depending on the absorption or scattering events, that is, according to the transport mean free path (MFP) [5–9]. The use of polarizing filters allows, up to a point, selecting photons for which polarization state is maintained: this is the basis of the polarization gating imaging methods. Linear polarization filters have been first extensively employed in sub-surface imaging, where one aims for surface mirror reflection elimination. A widely used technique is then detection *via* the cross-linear imaging channel to get rid of the mirror reflections. For tissues examination, this has initially been suggested by Anderson [10]. Applied to skin examination, these measurements are sensitive to depths superior to 300  $\mu\text{m}$  [11]. Surface contrast enhancement [12,13] is the other main polarization gating application. A simple subtraction between collinear and cross-linear imaging channels allows the separation of the surface (or shallow subsurface) contribution from the multiply scattered deep volume part, resulting in an enhancement of the surface image. This has also been applied to the determination of the optical properties of biological tissues [14]. Polarization gating is also used for localized spectroscopy [15,16] in order to extract surface signatures. Ellipsometry has also been performed on biological tissues: linear polarized illumination has been coupled with tunable polarization detection in order to characterize anisotropic structures in tissues, such as collagen fibers [17].

However, linear polarization gating, alone, does not allow filtering at the same time mirror reflections and multiple scattered light. In that sense, the technique proposed by Morgan and Stockford [18], advocating the use of circularly polarized light, is very appealing as it offers the possibility of filtering both mirror reflections and multiple scattered light, without any special preparation of the samples [11,19]. Since biological tissues are Mie scatterers [5], this filtration with circularly polarized light can indeed be achieved in tissues, allowing a deeper

screening than linearly polarized light. MacKintosh *et al.* [6] introduced the concept of “polarization memory”, describing the way the initial polarization is maintained through the variation of the number of scattering events, and showed that the polarization of circularly polarized light is indeed maintained through a larger number of scattering events than that of linearly polarized light. This effect has been demonstrated in biological tissues and used for the localization or analysis of specific sample regions not only in transmission image acquisition geometry [20] but also in reflection geometry [21], which is more adapted to biological tissue screening *in vivo*.

Here, we adopted the approach proposed by [18]. In addition, we introduce the novel idea that it is possible to select the probed depth as a function of the polarization ellipticity, thus allowing screening the tissue at any specific depth comprised between the surface and a maximum depth defined by the maximum penetration depth of the circularly polarized photons. An experimental setup has been developed and the principle is demonstrated through phantom experiments. Our final motivation in the present work is to test the feasibility of the technique for depth resolved IOI for exposed cortex *in vivo* examination. A first experiment has been conducted on an anesthetized rat and is reported as a first illustration.

## 2. Materials and methods

### 2.1. Polarization gating for volume selection

The principle has been developed by Morgan *et al.* [18]. It consists in sequentially illuminating the biological tissue with light polarized linearly or circularly. Detection performed under cross-linear polarization allows the collection of multiple scattered photons (those coming prevalently from deep tissues), whereas co-linear detection is restricted to the collection of linear polarization maintaining photons (mostly surface probing). If circularly polarized light is considered, one can distinguish three state of polarization domains: (i) the first backscattered photons have undergone a mirror reflection and thus flipped their helicity; when analyzed, those contribute to the cross-circular component (thus usable for the validation of the surface, mirror reflected, image); (ii) the second kind of backscattered photons emerge after a series of forward scattering events and maintain their original polarization state. They contribute to the co-circular component; (iii) the third type of photons have been randomly polarized by multiple scattering events and contribute equally to all polarization states.

By subtracting cross-linear images—to which the contribution of multiple scattered photons is predominant—from co-circular polarization images, one can probe a medium-depth subsurface volume. The latter is free of mirror reflections, while eliminating the multiple scattered photons coming from greater depths (probed by the cross-linear image). The extent of this middle-depth, “subsurface” volume depends on the optical properties of the medium.

Importantly, the same reasoning as above can be applied to elliptical polarization. However, the probed volume will be shallower than for circular polarization.

### 2.2. Experimental setup and image processing

The experimental setup (Fig. 1) is composed of a 150W halogen light lamp (OSL1-EC, Thorlabs SAS, France) for illumination. The beam is homogenized through a telecentric objective, and wavelength filtered with an interference chromatic filter (632.8 nm, 10nm FWHM, Thorlabs SAS, France). The detector is a CCD camera (12 bits, Orca ER, Hamamatsu Photonics, Japan) with an objective (7000E, Laser Components SAS, France) for detection. The incident beam passes through a polarizer and quarter wave plate. In the detection path there are also a quarter wave plate and an analyzer. The relative rotation angle between polarizers and quarter wave plates is tuned such as to obtain the desired polarization modes for illumination and detection.

The axes of the different optical components were first set with calibrated measurements. Linear polarization is obtained, for a given polarizer/quarter-wave plate couple, when the axis

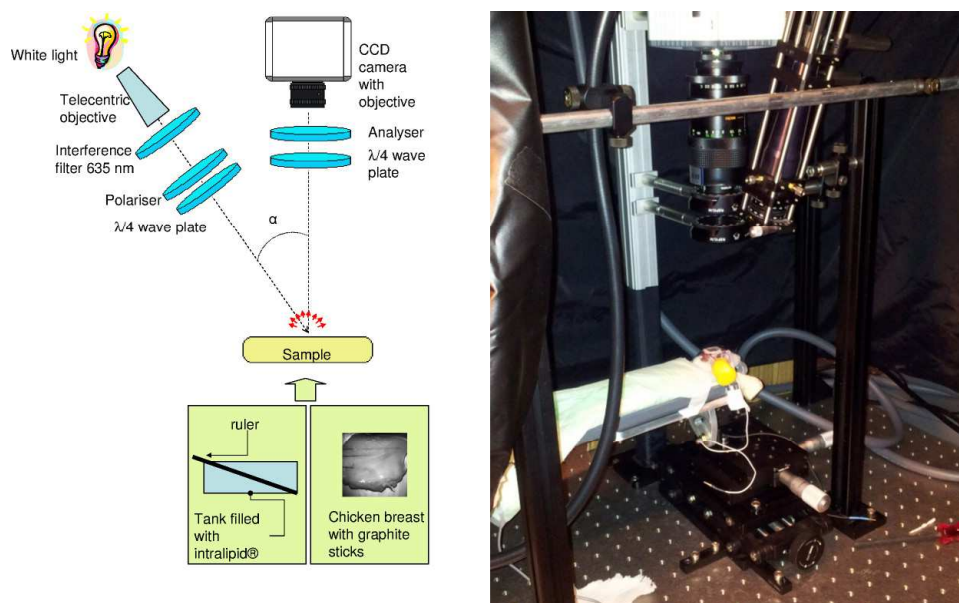


Fig. 1. Sketch (left) and photograph (right) of the experimental setup.

of the polarizer and the quarter-wave plate are aligned; circularly (right or left) polarized light is obtained when the fast axis of the quarter-wave plate is  $\theta = 45^\circ$  (+ or -, respectively) off the linear polarizer axis.

Experiments have been performed under different illumination/detection channels: (i) “collinear” image (illumination under linear polarization and detection under co-linear polarization) detects surface mirror reflected signal plus volume scattered signal; (ii) “crosslinear” image (illumination under linear polarization and detection under cross-linear polarization) detects only volume scattered signal; (iii) “co-elliptical” images (illumination under elliptical polarization and detection under co-elliptical polarization) detect subsurface signal and volume scattered signal.

With these schemes, the following imaging channels can be defined as follows:

- (A) “surface” = “collinear” – “crosslinear”;
- (B) “middle” = “co-elliptical” – “crosslinear”;
- (C) “multiple scattered” = “crosslinear”.

Evaluation of the polarization-maintained signal from the middle channels is based on the assumption that the fraction and characteristics of the multiple scattered photons are the same for linearly and elliptically polarized light. This approximation is substantiated in [19] for the case of circularly polarized light. In this reference, a Monte Carlo simulation shows that the penetration depth profiles of the collected multiple scattered photons are the same under cross-circular and cross-linear configurations, even if the number of multiple scattered photons collected under cross-circular configuration is smaller than the number collected under cross-linear configuration, which is coherent with the above-mentioned “polarization memory” effect. The image resulting from the subtraction of the middle channel and the multiple scattered channel, approximated by the measurement under cross-linear configuration, contains indeed only polarization-maintained signal, but this signal is underestimated, leading to images with a poorer signal to noise ratio (SNR). Although the reasons of the similarity of the depth distributions of multiple scattered photons, collected under both polarization configurations, are not obvious, the same approximation has been adopted here for light polarized elliptically. A numerical verification (Monte Carlo

simulations not shown here) has shown indeed this approximation has no major impact on the resulting images, provided, at least, the anisotropy factor is high, which is the case in biological tissues. The validity of this approximation depends indeed on the optical properties of the medium and deserves a specific study, which is out of the focus of this paper.

The exposure time of the camera was adapted to each measurement in order to preserve a high SNR for each measurement. Yet, to facilitate comparison between different images, the data are expressed per unit exposure time. No other processing has been applied to the images.

### 2.3. Samples description

Experiments have been conducted on three kinds of samples: the first series on Intralipid liquid phantoms for quantification evaluation, the second on a piece of chicken breast for biological tissue feasibility, and the third one, on an anesthetized rat with exposed cortex, as *in vivo* test.

#### 2.3.1. Liquid phantom

The liquid phantom was composed of aqueous Intralipid (20%, Sigma-Aldrich, France) dilution at adequate concentrations. A target in the form of a ruler (plastic) had been placed obliquely in a tank according to the sketch in Fig. 1. Placed in that way, each graduation read on the CCD screen corresponded to a different depth. The concentration of Intralipid had been adapted to match biological tissues optical properties but with a scaling in the size of the sample for macroscopic measurement of depth. The optical properties of Intralipid 1% have been determined according to the integral reflectance method [22]: the absorption coefficient is negligible and a  $\mu'_{s1\%} = 10.3 \pm 0.5 \text{ cm}^{-1}$  reduced scattering coefficient value was estimated. According to the accuracy of our optical (magnification) and mechanical components, a 0.1% diluted solution had been adopted, corresponding to  $\mu'_{s0.1\%} = 0.95 \pm 0.5 \text{ cm}^{-1}$ , allowing depth measurements at a millimetric scale. The anisotropy factor of Intralipid has been estimated to  $g = 0.73$  [23] leading to a scattering mean free path  $MFP = (1-g)/\mu'_s \sim 2.8 \text{ mm}$  (that is approximately 10 times longer than in biological tissues).

#### 2.3.2. Biological phantom

The second phantom was a piece of chicken breast. A graphite stick (diameter, ca. 1mm) was inserted with a small tilt angle (exact value not evaluable) to serve as inclusion. Caution was taken though to keep the superficial tissue sufficiently hydrated. This helped tracking the mirror reflections.

#### 2.3.3. *In vivo* experiment

After initial anaesthesia with 5% isoflurane, an adult male Wistar-Han rat was anesthetized with Urethane (intraperitoneal injection, 130 mg/100g body weight) placed in a stereotaxic frame for mechanical stability during craniotomy and during all the duration of the recordings. Body temperature was monitored, and maintained between 36 and 38°C with the use of a warm water bag. A craniotomy was performed creating a cranial window of ca. 5mmx5mm above the barrel cortex. To prevent the cortex from drying, a chamber of dental cement was created around the entire cranial opening such as to create a chamber that was filled with agarose in saline (2%). To provide a flat optical interface, the chamber was sealed with a microscope coverslip. In compliance with the directions of the Local Ethics Committee, we kept the number of animals used for this study as small as possible. All procedures were in agreement with NIH Guidelines.

## 3. Results

The two phantoms described above have been examined under the various described imaging channels. Hereafter, we show the resulting images obtained for the different “middle” channels and the “volume” channel.

The results obtained in Intralipid 0.1% are represented on Fig. 2. In the top part of the image, the different images are displayed with the same colorbar and show that the ruler can be seen in progressively larger depth, with a signal whose amplitude increases as well, showing that an increasing number of photons are collected as the polarization ellipticity increases. The middle part of Fig. 2 displays images with scales adapted (automatic scaling between maximum and minimum, with jet color map) to each image in order to enhance the contrasts of low signal images (subsurface images). It shows explicitly that some deep

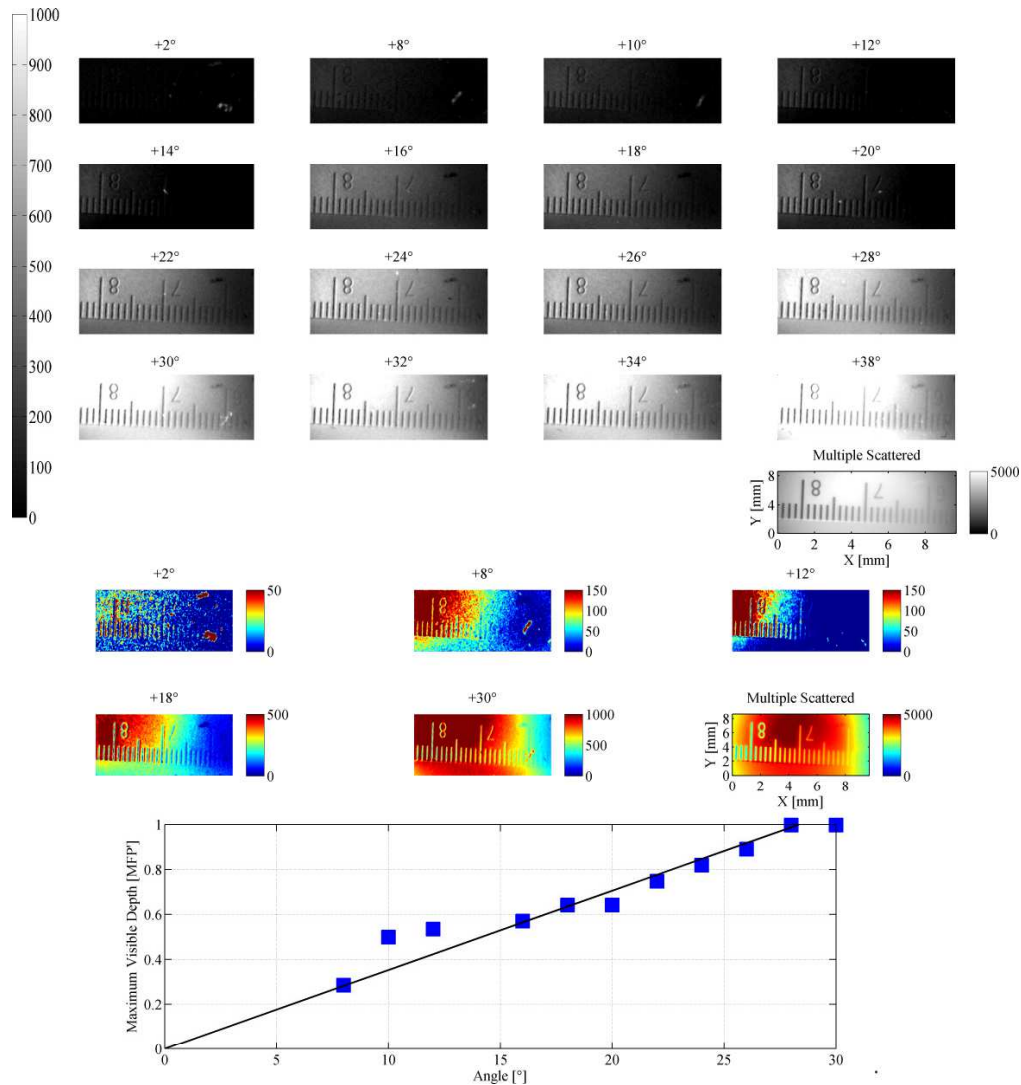


Fig. 2. Top: four first rows, “middle” channels images, obtained at different degrees of ellipticity, for Intralipid 0.1% experiment. The angle value measures the angle  $\theta$  between the polarizer and the illumination quarter-wave plate. The same grey level scale was used for all images. Fifth row image, deep channel image obtained under crosslinear detection, with the same field of view but different grey level scale (see colorbar). X axis indicates the actual depth of the ruler in the Intralipid, increasing from left to right, while Y axis indicates the actual dimension read at the surface of the probed medium. Middle: selected images with color level scale adjusted to each image, such as to go from its minimum to its maximum. For all images, intensity is expressed in arbitrary units. Bottom: ■ maximum depth (expressed in  $\text{MFP}' = (\mu_s')^{-1}$ ,  $1\text{MFP}' = 1.05\text{ cm}$ ) visible in a given polarization maintained channel as a function of the corresponding angle  $\theta$  between the polarizer and the illumination quarter-wave plate, the fitting line  $y = 0.035x$  (linear regression coefficient  $R^2 = 0.89$ ) is represented (black line).



structures are not visible on subsurface channels while clearly visible on deeper channels: for instance, number “7” is not visible on channel  $\theta = “+8^\circ”$  while clearly visible on channel  $\theta = “+18^\circ”$ .

Calculated from the tilt angle of the ruler, here, 1 mm read on the image corresponds to 0.375 mm depth shift: the horizontal axis on the multiple scattered image represents the corresponding actual depth of the ruler in the Intralipid, while the vertical axis indicates the actual dimension read at the surface of the probed medium. This experiment shows that polarized light can be collected up to ~5 mm in depth (corresponding to 0.5 mm in biological tissues) without any difficulty. To fix the ideas, the depth of the last visible bar of the ruler (Maximum visible depth), read in a given polarization maintained channel, is plotted as a function of the corresponding angle  $\theta$ . In order to have an estimation of the depth accessible in tissues, this depth is reported with a MFP' (transport mean free path) scale, accounting for all optical properties. A linear behavior is found showing a complete correlation between the polarization ellipticity and the probed depth, up to  $\theta = “+30^\circ”$ . This experiment can be easily reproduced for different optical properties media (for different absorption, scattering coefficients and anisotropy factors) and could serve as calibration measurement for tissue studies.

As the result of images subtraction, the SNR of the resulting channel images is smaller than that of the measured images. Using basic image processing should allow to reduce the noise contain of the images. Interestingly, a specific statistical analysis of the images as the Pearson correlation analysis proposed in [13] could improve the accuracy of the estimation of the probed depth.

The chicken breast experiment (Fig. 3) illustrates the feasibility in other kind of tissues. The graphite stick had been inserted from left to right with a small angle such that its depth is higher on the right hand side of the image. The horizontal and vertical axes, reported only on the multiple scattered images, indicate the field of view at the surface of the probed medium, in pixels unit, 1 pixel = 39  $\mu\text{m}$  x 39  $\mu\text{m}$ . The depth of the tip of the stick has not been properly measured: the coefficient of proportionality between the horizontal axis and the actual depth is not reported. However, we reported on the bottom part of Fig. 3 the maximal position (pixel units) of the visible part of the graphite stick, read on the horizontal axis of images in Fig. 3, as a function of the angle  $\theta$ . Basically the same comments as above could be done, small angle  $\theta$  representing near surface images, that is small polarization ellipticities, show only the superficial part of the stick (left side of the image) while for larger angle  $\theta$ , that is higher polarization ellipticities, right side becomes more and more visible, with an increase of the signal intensity.

The *in vivo* results are reported on Fig. 4. A network of blood vessels having different sizes can be seen on the white light image (Fig. 4, Top left). We focused on a portion of the image (Fig. 4, Top right) showing two distinct absorbing structures of different sizes: a very large vessel (a), and a smaller one (b). The first one (a) is a large superficial structure and is present in all channels. The smaller vessel (b) is visible only beyond a certain degree of ellipticity ( $\theta \geq +14^\circ$ ). Moreover, the signal intensity increases more above vessel (a) than below it. This discrepancy is not visible in the deep channel image, suggesting that the observed local absorption pattern is restricted to a more superficial volume.

#### 4. Conclusion

Here, we reported on the usage of polarization gating imaging with elliptically polarized light. Experiments were conducted both on phantoms and *in vivo*. Our results show that using imaging channels with elliptically polarized light allows probing subsurface volumes, which are well defined. Whereas the exact depth and extent of these subsurface volumes depend on the optical properties of the medium, such polarization gating allows producing images free of surface and deep volume scattering contaminations. Our phantom experiments show that the method can be used to probe tissues in depth up to at least 0.5 mm, which offers the possibility of screening a variety of layered biological tissues such as the exposed cortex, as tested here, or the skin. Further work, including modelling of light propagation, improvement



of the setup and application of signal processing, should allow using the method to image selectively sub-volumes at well-defined, specific depths. In this sense, the presented approach constitutes a first step towards functional optical imaging at user-selected depths within the tissue.

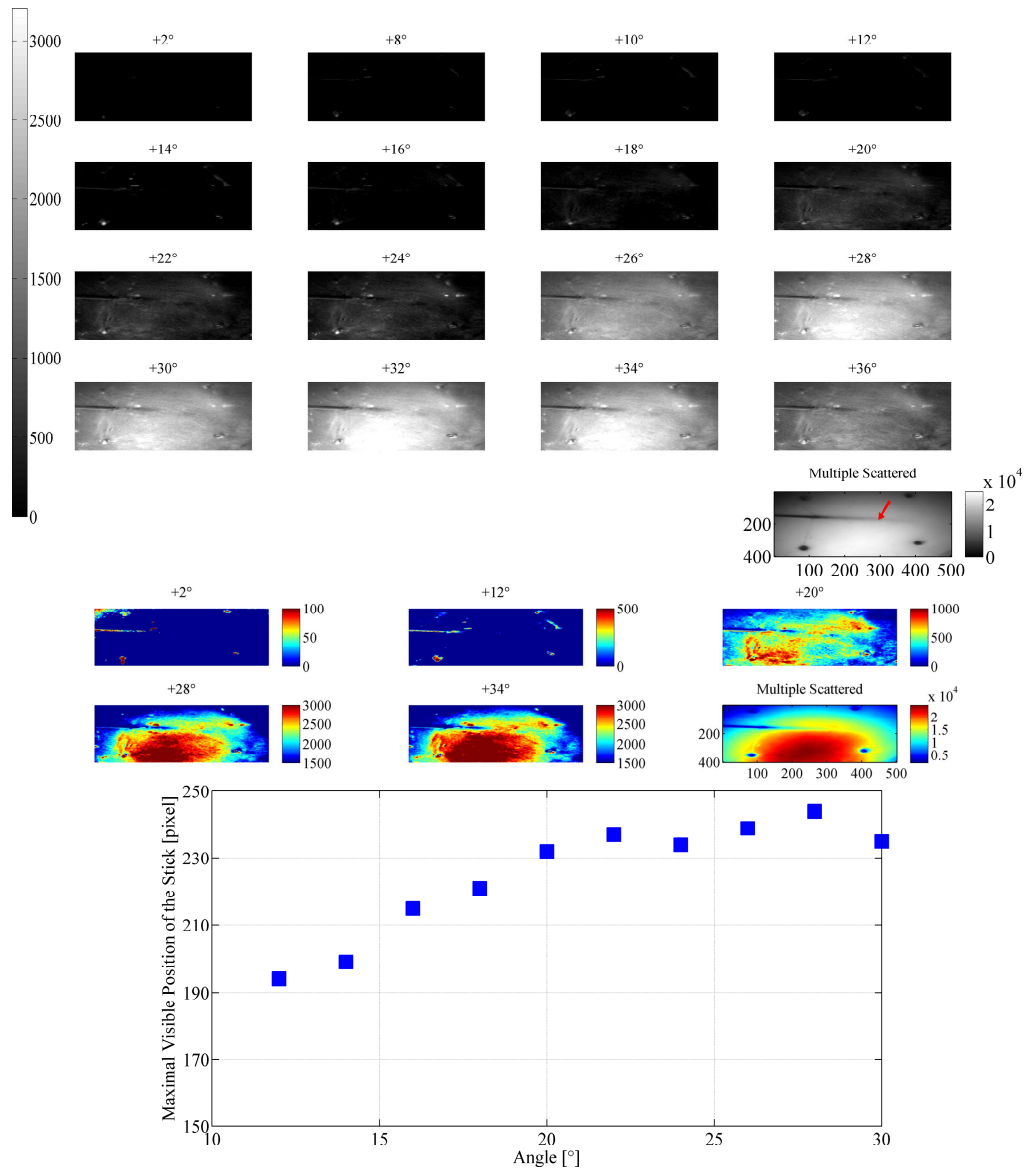


Fig. 3. Same as in Fig. 2 for chicken breast experiment. The depth of a graphite stick (arrow) in the tissue increases from left to right. Horizontal and vertical axes of images represent the field of view. Pixel size: 39  $\mu\text{m}$ .

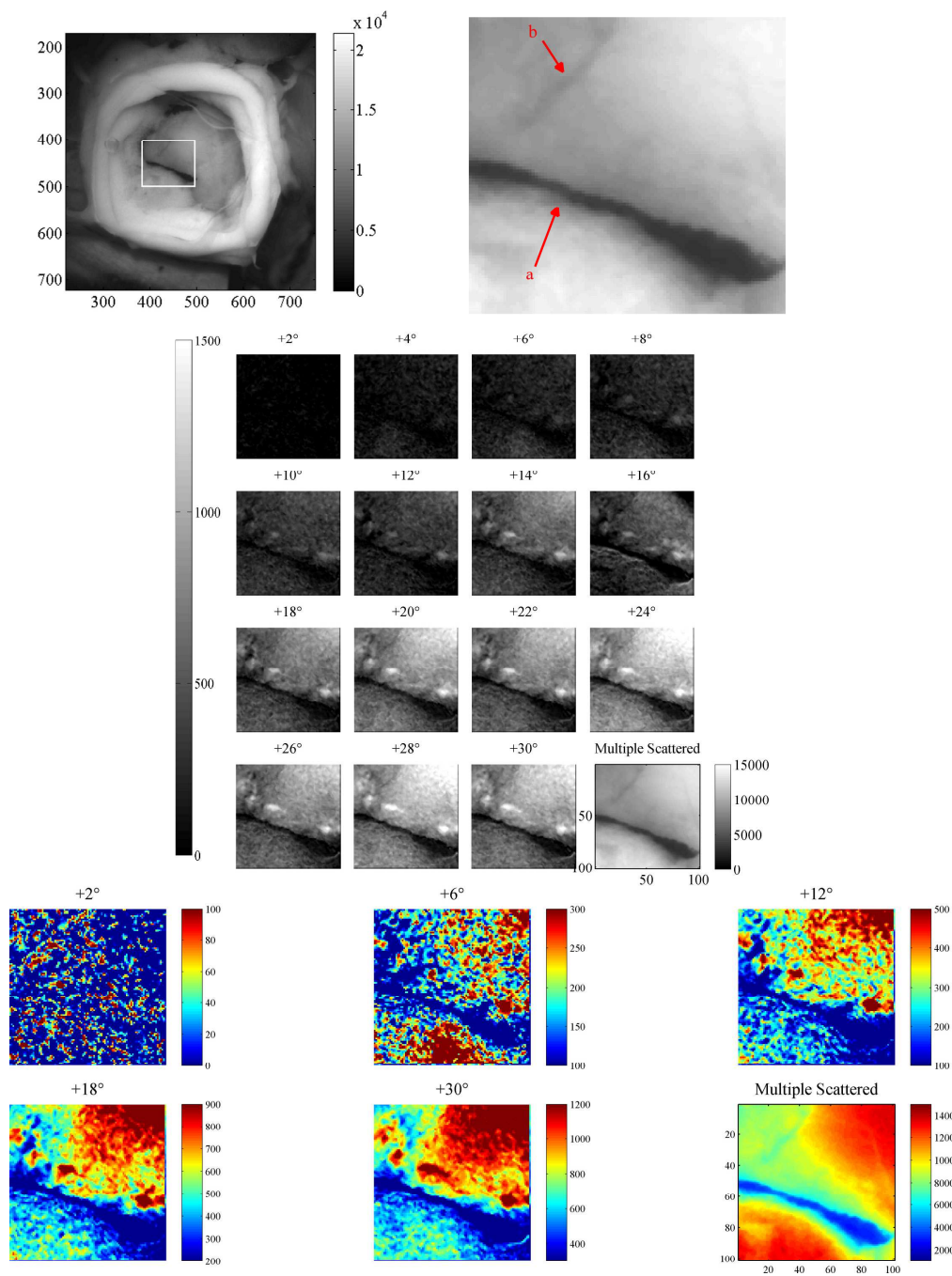


Fig. 4. Top, white light image of the imaging window with a large field of view (left), white rectangle marks the reduced field of view in which the image processing is performed (right). Middle and bottom, same as in Fig. 2, for rat cortex examination. Pixel size: 42  $\mu\text{m}$ .

## Acknowledgments

We thank Dr. N. Montejo Cervera for help with the rat experiment. Part of this work was supported by a grant from NRJ and recurrent CNRS funding.



#### IV. MODELISATION DE LA PROPAGATION DE LA LUMIERE POLARISEE EN MILIEUX DIFFUSANTS : DEVELOPPEMENT D'UN OUTIL DE SIMULATION BASE SUR LA METHODE MONTE CARLO

Pour modéliser la propagation de la lumière polarisée dans les tissus, nous avons opté pour le développement d'un code de calcul basé sur la méthode de Monte Carlo, principalement pour sa flexibilité et pour sa facilité d'implémentation. Nous introduisons tout d'abord le cadre théorique de l'équation de transfert radiatif vectorielle (ETR-V) qui permet de modéliser la propagation de la lumière polarisée en milieu diffusant. Ensuite, nous présentons les différentes méthodes de résolution de l'ETR et nous justifions le choix de la méthode statistique Monte Carlo.

Une adaptation de la théorie du transport permet de réécrire l'ETR en y incluant les effets de polarisation. On trouve une bibliographie détaillée décrivant les étapes du développement (Ishimaru 1999; Ishimaru, Yeh, and Lesselier 1984; Ishimaru and Yeh 1984; Bordier 2007). Pour décrire l'ETR-V, il faut remplacer certains termes de l'ETR de la façon suivante (Ishimaru 1989; Bordier 2007):

- La luminance (en Anglais « radiance ») est remplacée par le vecteur de Stokes (4x1).
- La fonction de phase est remplacée par la matrice de phase qui est la matrice de Mueller (4x4) dans le régime de la diffusion indépendante.

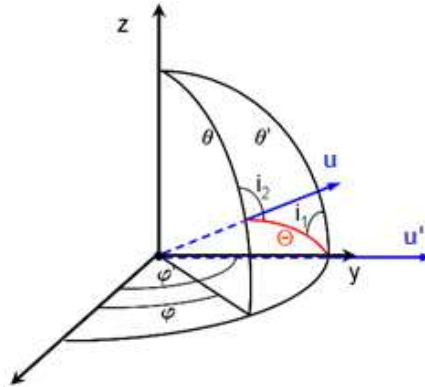


Figure 63: Notations.

Soient le vecteur de Stokes incident  $\mathbf{S}(s, \mathbf{u}', t) = [I, Q, U, V]^T$  avec sa direction  $\mathbf{u}'$  et le vecteur de Stokes après la diffusion  $\mathbf{S}(s, \mathbf{u}, t)$  avec sa direction  $\mathbf{u}$ , où  $I$  représente l'intensité totale,  $Q$  la partie polarisée linéairement,  $U$  la partie polarisée à 45° et  $V$  la partie polarisée circulairement. En procédant par analogie avec l'établissement de l'ETR non polarisée et en utilisant le principe d'addition des paramètres de Stokes pour des ondes indépendantes (Ishimaru, 1978), on peut écrire l'ETR-V de la façon suivante :

$$\frac{1}{c} \frac{\partial \mathbf{S}(s, \mathbf{u}, t)}{\partial t} + \mathbf{u} \cdot \nabla \mathbf{S}(s, \mathbf{u}, t) = -(\mu_a + \mu_s) \mathbf{S}(s, \mathbf{u}, t) + \frac{\mu_s}{4\pi} \int_{4\pi} \mathbf{M}(s, \mathbf{u}', \mathbf{u}) \mathbf{S}(s, \mathbf{u}', t) d\Omega' ds + \mathbf{Q}(s, \mathbf{u}, t)$$

La matrice de phase  $\mathbf{M}(s, \mathbf{u}', \mathbf{u})$  relie le vecteur de Stokes incident  $\mathbf{S}(s, \mathbf{u}', t)$  au vecteur de Stokes diffusé  $\mathbf{S}(s, \mathbf{u}, t)$ .  $\mathbf{Q}(s, \mathbf{u}, t)$  est le vecteur de Stokes d'une éventuelle source présente dans l'élément de volume. En diffusion multiple, il convient généralement de définir les vecteurs de Stokes incident et diffusé en utilisant leur plan méridien comme plan de référence (Chandrasekhar, 1960; Kattawar et al., 1973). Si les diffuseurs sont identiques, on peut relier

cette matrice de phase  $\mathbf{M}$  à la matrice de Stokes, notée ici  $\mathbf{P}$ , reliant le vecteur diffusé par une particule au vecteur de Stokes incident. Cependant,  $\mathbf{P}$  est généralement calculée dans un plan de référence local défini par la direction de propagation et la normale locale, soit le plan de diffusion. Il faut donc opérer deux rotations des vecteurs de Stokes : l'une pour ramener le vecteur de Stokes incident dans le plan de diffusion où il sera pondéré par la matrice de Stokes, l'autre pour ramener la résultante dans le plan méridien, soit, avec les notations de la Figure 63:

$$\mathbf{M}(\gamma, \varphi; \gamma', \varphi') = \mathbf{L}(\pi - i_2) \mathbf{P}(\Theta) \mathbf{L}(-i_1)$$

où  $\gamma = \cos\theta$  et  $\mathbf{P}(\Theta)$  est la matrice de diffusion qui est définie pour le cas d'une diffusion par une particule sphérique comme suit:

$$\mathbf{P}(\Theta) = \begin{pmatrix} P_{11} & P_{12} & 0 & 0 \\ P_{21} & P_{22} & 0 & 0 \\ 0 & 0 & P_{33} & P_{34} \\ 0 & 0 & P_{43} & P_{44} \end{pmatrix},$$

avec  $\Theta$  l'angle de diffusion.

$\mathbf{L}(\pi - i_2)$  et  $\mathbf{L}(-i_1)$  sont des matrices permettant d'effectuer les rotations du vecteur de Stokes dans le plan méridien avant diffusion puis dans le plan de diffusion après la diffusion.

$$\mathbf{L}(i) = \begin{pmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & \cos 2i & \sin 2i & 0 \\ 0 & -\sin 2i & \cos 2i & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 \end{pmatrix}$$

## METHODES STATISTIQUES

Une résolution statistique de l'ETR est souvent le seul moyen pour traiter des milieux ayant une surface complexe ou un milieu fortement hétérogène.

La méthode du *champ aléatoire de Markov* (en Anglais : Markov random field method) est une méthode stochastique basée sur la transition des probabilités (Grunbaum and Zubelli 1992). Cette méthode donne les probabilités de transitions internes du milieu étudié. Comme le modèle attend des données non-bruitées, il n'a pas été appliqué à des données réelles (Arridge and Hebden 1997).

La *théorie de la marche aléatoire* (connue dans la littérature sous son nom Anglais: « Random walk theory ») décrit le comportement statistique des marches aléatoires dans l'espace dans une grille discrète et cubique. A. Gandjbakhche (Gandjbakhche et al. 1993) l'a appliquée à la propagation des photons dans des tissus. Il a montré que cette méthode est en accord avec les résultats de la méthode de Monte Carlo qui est la méthode de référence parmi les méthodes statistiques.

La méthode la plus connue pour décrire la propagation de la lumière de manière stochastique est la *méthode Monte Carlo*. La propagation de la lumière est simulée avec des photons<sup>1</sup> lancés dans le milieu étudié. Leur propagation se fait par sauts discrets de longueur

<sup>1</sup> Le terme photon n'est pas très correct ici du fait de la prise en compte partielle de l'absorption et de la diffusion pour certains codes Monte Carlo. Nous choisissons quand même ce terme, largement utilisé dans la littérature, par soucis de simplicité.

aléatoire pondérée par la loi de Beer-Lambert, et, à chaque saut, la direction aléatoire de propagation du photon dans le milieu est également pondérée par la fonction de phase. Celle-ci peut être calculée à l'aide de la théorie de Mie (Mie 1908). Certains codes de Monte Carlo utilisent la fonction de phase de Henyey-Greenstein (Henyey and Greenstein 1941), version approximée de la précédente, dont l'expression n'est établie que pour la lumière non polarisée. Comme il s'agit d'une méthode statistique, le nombre de photons utilisés détermine la précision du résultat de la simulation. Le rapport signal sur bruit dépend ainsi de la racine carrée des photons lancés. Cette méthode très simple sur le principe s'avère souvent très lourde au niveau du temps de calcul.

Le choix de la méthode de Monte Carlo (MC) pour la suite de notre étude est motivé par le fait qu'elle ne fait aucune approximation sur la géométrie ou les propriétés optiques du milieu. Parmi les méthodes statistiques, nous la choisissons pour sa capacité d'adaptation à des milieux complexes. Le grand inconvénient de la méthode MC est le temps de calcul qui nécessite de fortes capacités informatiques. Mais des compromis peuvent être trouvés en parallélisant les processus grâce à des serveurs multi-cœurs ou des algorithmes permettant d'utiliser la carte graphique (GPU) (Alerstam, Svensson, and Andersson-Engels 2008). Le code Monte Carlo choisi, bien que librement accessible sur internet, a subi des modifications substantielles pour s'adapter à notre étude.

Le code de base (Ramella-Roman, Prahl, and Jacques 2005) a précisément été choisi car il nous permet d'intégrer les adaptations nécessaires à notre étude.

## V. INTRODUCTION DE LA POLARISATION ELLIPTIQUE POUR UNE RESOLUTION EN PROFONDEUR : ÉVOLUTION DE LA PROFONDEUR SONDEE EN FONCTION DES PROPRIETES OPTIQUES

Rappelons brièvement les résultats de Stockford et Morgan (Stockford et al. 2002). A l'aide de simulations Monte Carlo illustrées par des mesures expérimentales, ils ont montré que les polarisations linéaire et circulaire permettent de sonder différentes profondeurs en suivant la profondeur maximale de pénétration de chaque photon rétrodiffusé. Dans leurs études, le milieu diffusant sondé ne comporte cependant pas d'absorption, et possède un paramètre d'anisotropie élevé ( $g=0.92$ ) mais conforme à ce que l'on peut mesurer sur les tissus biologiques. Dans ces conditions, ils obtiennent une profondeur maximale de pénétration de la lumière polarisée linéairement de 2 libre parcours moyen de diffusion (« Mean Free Path », noté MFP dans la suite, inverse du coefficient de diffusion  $\mu_s$ ). Pour la polarisation circulaire, ils obtiennent une profondeur maximale de pénétration de 7 MFP, une profondeur estimée à 1000  $\mu\text{m}$  pour la peau est ainsi annoncée. Comme nous l'avons déjà précisé, nous verrons dans ce qui suit que ces résultats doivent être interprétés avec précaution car ils dépendent beaucoup du coefficient d'absorption et du paramètre d'anisotropie. Par ailleurs, (Morgan and Ridgway 2000) présentent une étude de mesure de DOP en polarisation elliptique en rétrodiffusion et montrent effectivement que la polarisation elliptique conserve sa polarisation jusqu'à une profondeur intermédiaire entre celles des polarisations linéaire et circulaire. Nous sommes partis de ces constations pour mener notre étude afin d'étudier les possibilités, avantages et limitations, de la technique.

Le modèle de propagation est introduit dans une chaîne de détection, afin de simuler un système d'imagerie polarimétrique. L'étude théorique menée dans le cadre de la thèse de S. Rehn (Rehn, 2012) montre que l'utilisation de la lumière polarisée elliptiquement apporte de nouvelles possibilités par rapport aux techniques d'imagerie polarimétriques conventionnelles, à savoir, un sondage du milieu en profondeur, avec une profondeur intrinsèquement liée à l'ellipticité de polarisation et aux propriétés optiques. Nous proposons ainsi une méthode de sondage sélectif du milieu diffusant, permettant une exploration continue entre la surface, analysée en polarisation linéaire, et une profondeur maximale définie par l'utilisation de la polarisation circulaire.

La chaîne de mesure est prise en compte *via* une formulation établie pour permettre de décrire les canaux de mesure elliptiques. Elle dépend des éléments optiques utilisés pour générer et analyser la lumière polarisée. Cette formule est utilisée pour la réalisation d'une étude théorique des possibilités de la méthode de sondage polarimétrique. Afin de couvrir le plus grand spectre d'applications possibles dans le domaine de l'imagerie biomédicale optique, l'étude couvre une gamme de propriétés optiques très large. De plus, nous avons pris soin de présenter les résultats, dans la mesure du possible, dans des unités (libre parcours moyen de transport) permettant aisément d'adapter les résultats à d'autres types de milieux diffusants. Les résultats de cette étude sont suivis d'une discussion concernant la réalisation expérimentale et les approximations utilisées. Enfin, nous insistons sur l'application à l'examen des tissus biologiques et sur la sensibilité de cette technique.

La description et les résultats de l'étude sont publiés dans l'article (Rehn et al., 2013), reproduit ci-après.

# Depth probing of diffuse tissues controlled with elliptically polarized light

Simon Rehn,<sup>a,b</sup> Anne Planat-Chrétien,<sup>b</sup> Michel Berger,<sup>b</sup> Jean-Marc Dinten,<sup>b</sup> Carole Deumié,<sup>a</sup> and Anabela da Silva<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Institut Fresnel, CNRS, Aix-Marseille Université, Ecole Centrale Marseille, Campus de Saint Jérôme, 13013 Marseille, France

<sup>b</sup>CEA, LETI, MINATEC, 17 rue des Martyrs, F-38054 Grenoble, France

**Abstract.** Polarization gating is a popular technique in biomedical optics. It is widely used to inspect the surface of the tissues (under colinear or cocircular detection) or instead to probe the volume (cross-linear detection), without information on the probed depth. Elliptical polarization is introduced to explore the possibility of probing diffuse tissues at selective depths. A thorough Monte Carlo simulation study shows complete correlation between the probed depths and the ellipticity of the polarized light, for a medium with known optical properties. Within a wide range of optical parameters, a linear relation between the backscattered intensity and the depth extension of the probed volume was found whatever the polarization used, but with a controlled extension depending on the ellipticity. © 2013 Society of Photo-Optical Instrumentation Engineers (SPIE). [DOI: 10.1117/1.JBO.18.1.016007]

Keywords: light propagation in tissues; turbid media, medical and biological imaging; polarimetric imaging.

Paper 12688L received Oct. 18, 2012; revised manuscript received Nov. 28, 2012; accepted for publication Dec. 3, 2012; published online Jan. 7, 2013.

## 1 Introduction

Optical imaging in biomedical applications has been very popular since the early 1980s, for its noninvasiveness and for the simplicity of the techniques. The main problem of light interactions with biological tissues in the optical wavelength range is the strong scattering of light. These techniques, therefore, suffer from a lack of resolution in depth. As photons undergo multiple scattering events before being detected, it is difficult to associate a probed depth to the detected signal. To circumvent the problem, photon gating approaches have been introduced, among which time- and polarization-gating are very successful. Time-gating allows filtering the photons as a function of their pathlengths but has the disadvantage of needing very expensive and sophisticated equipment. Moreover, measurements at millimetric optical paths are challenging, as a 1 mm optical path corresponds approximately to a time delay of 4 to 5 picoseconds in tissues. The polarization gating method is a simple method using the information of the polarization state of the detected backscattered light to filter the unpolarized photons.

Intuitively, when traveling through the medium, polarized photons will maintain their state of polarization to a smaller or larger extent, according to the absorption or scattering events, that is, according to the transport mean free path (MFP). Initial polarization will be maintained only for a certain number of scattering events until total depolarization is reached.<sup>1</sup> Commonly, linear polarization and more rarely circular polarization are used for polarization gating. It was shown that the method allows light extraction from superficial tissue,<sup>2</sup> whereas circular polarization is sensitive to deeper layers.<sup>3</sup> If the diffusing medium is composed of Mie scatterers as in most biological tissues, because of polarization-memory effects<sup>1,4</sup> the depth defined by a circular-polarization gate is shown to be larger

than that defined by a linear-polarization gate. Moreover, as circular polarization undergoes a helicity flip with mirror reflection, this technique thus allows screening of subsurface tissues deeper than linearly polarized light, without any blurring due to surface mirror reflection. Elliptical polarization has been seldom used in polarization gating. Preliminary studies<sup>3</sup> have shown that elliptical polarization-gating is sensitive to tissue layers between those of the two latter mentioned polarizations.

In this paper, we show through the results of a Monte Carlo simulation study, which is exhaustive in terms of the range of optical properties tested, that using different polarization ellipticities allows probing at different depths. These depths are well-defined as the optical properties are known, and totally depend on the ellipticity of the polarization of the illumination. It is demonstrated that the maximum depth reached by polarized photons completely depends on the polarization used and the optical properties of the probed tissue. The technique thus offers the possibility of a continuous selective probing in depth by tuning the ellipticity of polarization. Moreover, the link between measured backscattered intensity and probed depth has been studied: a linear relation was found between the radial extension of the backscattered intensity and the probed depth for any polarization.

## 2 Method and Definitions

### 2.1 Simulating Polarized Light Propagation with Monte Carlo

The Monte Carlo method<sup>5,6</sup> is used to simulate polarized light propagation in a quasi semi-infinite medium. The principle consists of evaluating statistically photons propagation through the tissues by taking into account local optical properties expressed in terms of probability distributions defining: (1) the step size of each photon movement between two scattering/absorption events, and (2) the angles of deflection in a photon's trajectory when a scattering event occurs. The evolution of the polarization

Address all correspondence to: Anabela da Silva, Institut Fresnel, CNRS, Aix-Marseille Université, Ecole Centrale Marseille, Campus de Saint Jérôme, 13013 Marseille, France. Tel: +33 491 288 482; Fax: +33 491 288 067; [anabela.dasilva@fresnel.fr](mailto:anabela.dasilva@fresnel.fr)



state of each photon is tracked through the modifications of a Stokes vector, modified at each photon-tissue interaction by a Mueller matrix accounting for the optical properties of the medium. In the present study, a Quaternion Monte Carlo code, initially developed by J. Ramella-Roman,<sup>6</sup> has been modified in order to take into account Fresnel reflections at the interface.<sup>7</sup> The new code has been validated with comparison with published results (mainly Refs. 8 and 9). The final Stokes vector, describing the final polarization state with the contribution of all backscattered photons is saved.

## 2.2 Polarization Gating

This allows calculating surface images representing different co- and cross-polarized illumination/detection schemes, also called imaging channels. A possible experimental setup is schematized in Fig. 1, allowing measurements under any polarization channel (co- and cross-linear, co-elliptical and co-circular).<sup>10</sup> The definition of co-elliptical channels is, in fact, not trivial and must be detailed. The simulated imaging channels can be fully expressed with the Stokes vector depending on the rotation angles  $\alpha$  of the horizontal axis of the linear polarizer and the rotation angle  $\beta$  of the fast axis of the quarter-wave plate (Fig. 1). The resulting ellipticity of the polarization is  $\epsilon = \beta - \alpha$ .

Any elliptically co- and cross-polarized channel intensity  $I(\alpha, \beta)$ , including the special cases for linear and circular polarizations, can be described with the following equation depending on the rotation angles  $\alpha$  of the polarizer and the rotation angle  $\beta$  of the quarter-wave plate as well as the Stokes vector  $S_i = [I_i, Q_i, U_i, V_i]^T$  emerging from the probed medium:

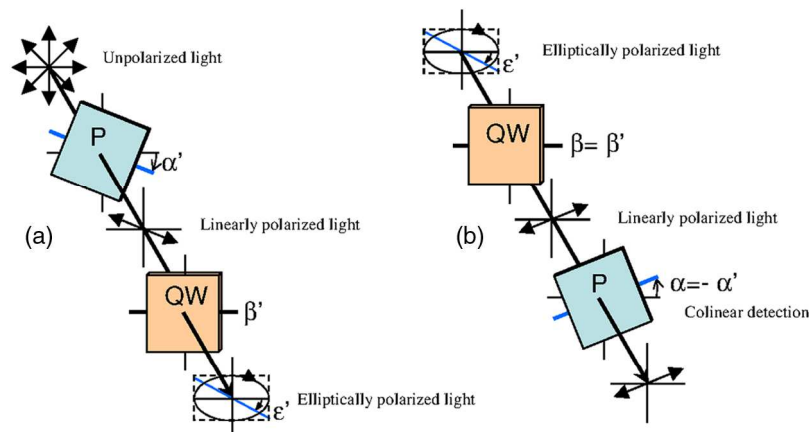
$$I(\alpha, \beta) = (I_i + \cos(2\beta) \cos[2(\alpha - \beta)] Q_i + \sin(2\beta) \cos[2(\alpha - \beta)] U_i + \sin[2(\alpha - \beta)] V_i) / 2. \quad (1)$$

As recommended in Ref. 9, by subtracting the cross-linear channel, measuring the multiple scattered (or totally depolarized) part of the signal, from the images obtained under copolarized channels, one obtains a good approximation of the polarization maintaining images, free from surface reflections if elliptical polarization is considered.

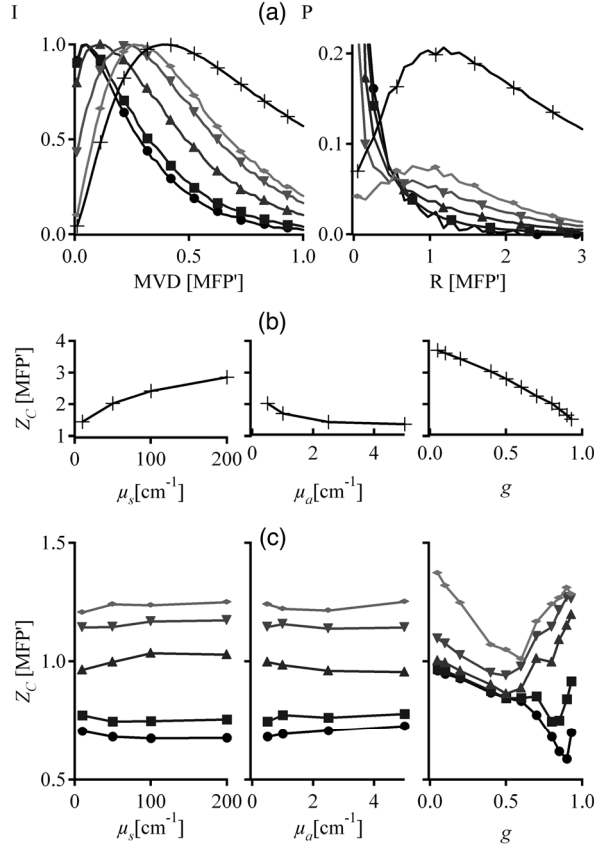
## 2.3 Introduction of Signal Descriptors for Analyzing Depth and Radial Extension of the Polarized Backscattered Signals

In order to study the depth extent of each polarization gating measurement, the histogram of the mean visitation depth (MVD) of all emerging photons is specifically generated and weighted with the final Stokes vector, and normalized to signal maximum. The MVD is representative for the volume probed by the backscattered photons<sup>11</sup> and therefore contains most of the information on the depth extension of the probed volume. Here, the optical properties of a semi-infinite medium are varied in order to scan all possible sets of optical properties in biological tissues: the scattering coefficient has a range of  $\mu_s = 10$  to  $200 \text{ cm}^{-1}$ , the absorption coefficients are  $\mu_a = 0.5$  to  $5 \text{ cm}^{-1}$ , and the mean cosines of the scattering angles are  $g = 0.05$  to  $0.95$ , with size parameters (wave-number in the medium multiplied by the radius of the particle) in the range of  $0.53$  to  $7.55$ , covering Mie scattering regime, and also approaching Rayleigh scattering regime. The refractive index of the medium is  $1.4$  and outside of the medium the refractive index of air is taken into account. The chosen range of optical properties for the simulations covers especially skin and vessel tissue, but includes also some properties of the Rayleigh regime.<sup>11,12</sup> A pencil beam perpendicular to the surface is considered. The computed MVD of different polarization imaging channels as well as depolarized light is represented in Fig. 2(a) left, with a MFP' scale,  $\text{MFP}' = [\mu_a + (1 - g)\mu_s]^{-1}$ . This histogram demonstrates that the MVD depends on the illumination polarization. The peak of the normalized signal varies with the used ellipticity and allows, therefore, probing different depths.

A depth-descriptor  $Z_C$  is introduced for each polarization histogram and defined as the MVD for which the intensity is 10% of the maximum, on the right hand side of the curve,  $I(Z_C) = 0.1$ . Amongst other possible descriptors (e.g., maximum or mean values),  $Z_C$  was found as the most stable and producing the largest differentiation between the polarizations, for the simulated range of optical properties. The value of determined in this way fixes an upper bound of the extension of the mean depth probed by a majority of the detected polarized photons. The evolution of  $Z_C$  is analyzed for different



**Fig. 1** Sketch of an example of the optical imaging system with linear polarizers (P) and quarter-wave plates (QW). (a) Generation of the elliptically polarized light in the illumination path. (b) Analysis of elliptically polarized light in the detection path. The polarization ellipse of the illumination and the detection can be described by the rotation angles  $\alpha$  and  $\alpha'$  of the horizontal axis of the linear polarizer and the rotation angle  $\beta$  and  $\beta'$  of the fast axis of the quarter-wave plate. The ellipticities  $\epsilon$  and  $\epsilon'$  are defined by  $\epsilon = \beta - \alpha$  and  $\epsilon' = \beta' - \alpha'$ . Copolarization detection is obtained for  $\alpha = \alpha'$ ,  $\beta = \beta'$ , and  $\epsilon = \epsilon'$ .



**Fig. 2** (a) Examples of (left) histograms of mean visitation depth (MVD) and (right) probabilities  $P$  for backscattered photons emerging at radial distances  $R$ , for different maintained polarizations [ $\bullet$  linear,  $\blacksquare$  elliptical ( $\epsilon = 0.05\pi$ ),  $\blacktriangle$  elliptical ( $\epsilon = 0.1\pi$ ),  $\blacktriangledown$  elliptical ( $\epsilon = 0.15\pi$ ),  $\blacklozenge$  circular ( $\epsilon = 0.25\pi$ ),  $\alpha = 0.25\pi$  for all simulations, and  $+$  depolarized light] on a MFP' scale ( $\mu_a = 0.5 \text{ cm}^{-1}$ ,  $\mu_s = 100 \text{ cm}^{-1}$ ,  $g = 0.8$ : 1 MFP' = 488  $\mu\text{m}$ ). (b) Evolution of the depth-descriptor  $Z_C$  for depolarized light (cross-linear measurement) as a function of  $\mu_s$ ,  $\mu_a$ , and  $g$ . (c) Evolution of  $Z_C$  with different polarizations [same markers as (a)] as a function of  $\mu_s$ ,  $\mu_a$  and  $g$ .

polarizations and with different optical properties and elliptically polarized light in Fig. 2(b) and 2(c). The MFP' scale takes the scattering and absorption coefficients into account leading to a quasi independence of the descriptor on these parameters [Fig. 2(c)], while for depolarized light, a strong dependence on  $\mu_a$  and  $\mu_s$  persists [Fig. 2(b)]. Even if the MFP' scale also accounts for the anisotropy factor  $g$ , there is still a relatively strong dependence on  $g$  for all polarizations as well as depolarized light, especially if the anisotropy factor is high (Mie scatterers), because of its influence on the MFP' scale.

The backscattered intensity  $I_o(r, \phi)$  of the co- and cross-polarized channels is obtained by counting all backscattered photons collected in a given polarization channel. A probability  $P(R)$  can be defined for backscattered photons emerging at radial distance  $R$  per unit pixel length:

$$P(R) = \int_{r=0}^R \int_{\phi=0}^{2\pi} r I_o(r, \phi) dr d\phi. \quad (2)$$

This integral probability [e.g., Fig. 2(a) right] takes into account the diversity of the different radial patterns of the

polarized backscattered channel measurements. A radial-descriptor  $R_c$  has been defined in Ref. 13 for linear polarization channels:

$$\int_0^{R_c} P(R) dR / \int_0^\infty P(R) dR = 0.9. \quad (3)$$

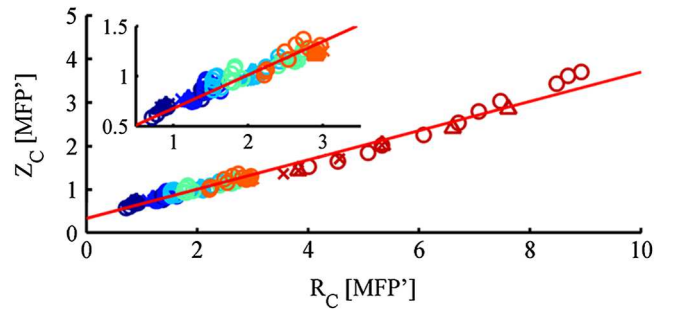
It has been adopted here for general elliptical polarization channels because it allows accounting for both radial extension of the backscattered signal and the diversity of the intensity profiles. The evolution the radial descriptor  $R_c$  has been analyzed in the same way as  $Z_C$ .

### 3 Results and Discussion

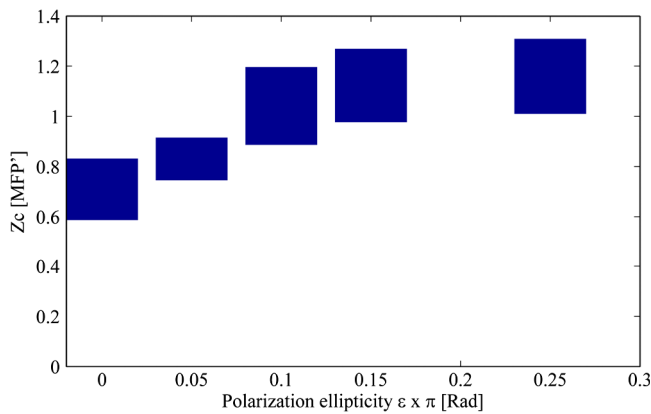
A complete correlation between the two descriptors has been found: Fig. 3 gathers all the simulation results obtained under the large range of optical properties, for both descriptors.

The influence of optical properties and different polarizations on the relation between the MVD and the radial intensity distribution are summarized in this figure, with a description previously introduced by Liu et al.<sup>13</sup> These results are consistent with those reported in Ref. 13, though for linear polarization and with a different depth indicator. To our knowledge, the present study reports for the first time that this behavior is maintained whatever the polarization. The correlation between the two descriptors is very linear for different maintaining polarizations and even for depolarized light. A linear curve can be fitted with the data having a slope 0.33, an ordinate at the origin of 0.34, and standard deviation of 0.10. Note that all results were obtained by considering an infinitely narrow pencil beam with normal incidence to the surface. The slope of this curve has to be considered as a maximum value as the depth accessible under a non-normal incidence illumination will be shallower. Interestingly, one can thus express in synthesized form the following approximation, when all quantities are expressed in metric units:

$$Z_c \approx R_c/3 + (3[\mu_a + (1-g)\mu_s])^{-1} = R_c/3 + D, \quad (4)$$



**Fig. 3** Evolution of  $Z_C$  (probed depth) as a function of  $R_c$  (radial extension of the backscattered intensity). Color code represents the polarization state: linear (dark blue), elliptical ( $\epsilon = 0.05\pi$ ) (clear blue), elliptical ( $\epsilon = 0.1\pi$ ) (turquoise), elliptical ( $\epsilon = 0.15\pi$ ) (green), circular ( $\epsilon = 0.25\pi$ ) (orange) [ $\alpha = 0.25\pi$  for these simulations], depolarized (red). Three different markers are used for the different optical parameters: absorption coefficient  $\mu_a$  (x), scattering coefficient  $\mu_s$  ( $\Delta$ ), and anisotropy factor  $g$  (O). Inset: Zoom in the region probed by polarized light. Red line: fitting curve obtained by linear regression.



**Fig. 4** Evolution of  $Z_C$  (probed depth) as a function of the polarization ellipticity  $\epsilon$ . The extension of the bars is bounded by the maximum and minimum values found for the range of optical properties explored.

where  $D$  is the diffusion constant as defined in the diffusion approximation.<sup>12</sup> We have thus introduced a general formula linking the radial extension of the measurable backscattered intensity to the depth extension of the probed volume, whatever the polarization channel used. Moreover, as the optical properties (anisotropy factor, absorption, and scattering coefficients) can be retrieved by analyzing the morphology of the backscattered polarized signals,<sup>14</sup> one can estimate the value of  $MFP'$  (or equivalently  $D$ ). This leads unambiguously to an estimation of the probed depth by measuring  $R_c$ .

The limited depth extension of the volumes probed with different polarization channels is clearly highlighted with the chosen color code. It is shown that polarization maintaining channels will probe volumes larger as the polarization ellipticity increases. One can also verify that there is no intersection between volumes probed by depolarized and by polarized light. Interestingly, to illustrate this purpose, one can plot (Fig. 4) the

evolution of the maximum and minimum values of  $Z_C$  as a function of the polarization ellipticity  $\epsilon$ : tuning the optical components in order to select a given polarization channel allows to probe scattering media up to specific depths, well defined if the optical properties are known.

To fix the ideas, specific calculations have been done for different types of tissues such as skin or brain tissues. The choice of the tissues is motivated by the fact that, for these tissues, conventional two-dimensional (2-D) intrinsic optical imaging techniques is the main optical technique used. In these cases, the present imaging technique could offer new opportunities in probing selectively the depth of these tissues allowing a more precise identification of the sources of the measured signal. The results of the calculations are summarized in Table 1.

This table shows the probed depths, accessible by polarization gating, can be of few hundreds of microns. This corresponds precisely to the depths extensions thought in many applications such as in skin cancers or exposed cortex screening, usually monitored with 2-D intrinsic optical imaging techniques, with no depth resolution. The present polarization gated technique can as well provide functional information and offers the advantage of being simple, with possibly fast data acquisitions.

## 4 Conclusion

This paper has shown that the use of elliptical polarization allows selection of photons which probed a specific depth, in a range defined by: (1) a minimum depth obtained by measuring the linear polarization maintaining signal; and (2) a maximum depth with the circular polarization maintaining signal. This allows tuning elliptical polarization in order to select a given probed depth under the condition of known optical properties. Furthermore, it was demonstrated that the probed depth is fully related to the backscattered radial extension for all polarizations. The relation found for different polarized illuminations applies also to depolarized light. The formulation allows prediction of the expected probed depth if the optical properties of the

**Table 1** Depth-indicator  $Z_C$  calculated with optical properties corresponding to different types of tissues. Depths are reported in [MFP] unit and there corresponding values in  $\mu\text{m}$ . The values of the optical properties correspond approximately to the values reported in Ref. 15 and references therein, at the wavelength 633 nm.

Tissue	Absorption coefficient $\mu_a(\text{cm}^{-1})$	Scattering coefficient $\mu_s(\text{cm}^{-1})$	Anisotropy factor $g(-)$	MFP $(\mu\text{m})$	Depth-indicator $Z_C$							
					Linear		Elliptical $\epsilon = 0.1\pi$		Circular		Multiple scattering	
					[MFP]	$(\mu\text{m})$	[MFP]	$(\mu\text{m})$	[MFP]	$(\mu\text{m})$	[MFP]	$(\mu\text{m})$
Example <sup>a</sup>	0	100	0.92	100	7.7	769.5	14.8	1476	16.7	1667	67.5	6750
Human skin	3.2	168.6	0.81	59.3	3.4	200.1	4.6	271.8	5.8	343.1	8.3	491
Pork skin	1	492.6	0.95	20.3	12.7	256.9	23.5	476.6	26.0	528.6	40	812
Aorta	0.52	316.4	0.87	31.6	4.5	142.3	7.9	249.7	9.2	291.2	22.8	719
Gray matter	2.7	357.1	0.94	28	9.1	254.9	17.1	477.9	18.8	525.3	23.1	647
White matter	2.2	534.8	0.82	18.7	3.8	70.1	5.5	102.8	6.6	123.4	13.2	246
Uterus	0.35	393.7	0.69	25.4	2.6	65.9	3.1	77.3	3.5	88.3	10.5	267

<sup>a</sup>Which is an example representing the most favorable situation for light penetration in depth in biological tissues (nonabsorbing, forward scattering). These values are also those used by Stockford et al. in their simulations.<sup>9</sup>

investigated medium and the illumination polarization are known. The formulation is valid for a wide range of optical parameters and for all polarization channels.

## References

1. F. C. MacKintosh et al., "Polarization memory of multiply scattered light," *Phys. Rev. B* **40**(13), 9342–9345 (1989).
2. S. G. Demos and R. R. Alfano, "Optical polarization imaging," *Appl. Opt.* **36**(1), 150–155 (1997).
3. S. Morgan and M. Ridgway, "Polarization properties of light backscattered from a two layer scattering medium," *Opt. Express* **7**(12), 395–402 (2000).
4. D. Bricout et al., "Depolarization of multiply scattered waves by spherical diffusers: influence of the size parameter," *Phys. Rev. E* **49**(2), 1767–1770 (1994).
5. L. Wang, S. L. Jacques, and L. Zheng, "MCML—Monte Carlo modeling of light transport in multi-layered tissues," *Comput. Methods Program. Biomed.* **47**(2), 131–146 (1995).
6. J. Ramella-Roman, S. Prahl, and S. Jacques, "Three Monte Carlo programs of polarized light transport into scattering media: part I," *Opt. Express* **13**(12), 4420–4438 (2005).
7. F. Jaillon and H. Saint-Jalmes, "Description and time reduction of a Monte Carlo code to simulate propagation of polarized light through scattering media," *Appl. Opt.* **42**(16), 3290–3296 (2003).
8. S. P. Morgan and I. Stockford, "Surface-reflection elimination in polarization imaging of superficial tissue," *Opt. Lett.* **28**(2), 114–116 (2003).
9. I. M. Stockford et al., "Analysis of the spatial distribution of polarized light backscattered from layered scattering media," *J. Biomed. Opt.* **7**(3), 313–320 (2002).
10. W. S. Bickel, "Stokes vectors, Mueller matrices, and polarized scattered light," *Am. J. Phys.* **53**(5), 468–468 (1985).
11. S.-H. Tseng et al., "Investigation of a probe design for facilitating the uses of the standard photon diffusion equation at short source-detector separations: Monte Carlo simulations," *J. Biomed. Opt.* **14**(5), 054043 (2009).
12. V. V. Tuchin, *Tissue Optics*, SPIE, Bellingham, WA (2007).
13. Y. Liu et al., "Investigation of depth selectivity of polarization gating for tissue characterization," *Opt. Express* **13**(2), 601–611 (2005).
14. J. Falconet et al., "Analysis of simulated and experimental backscattered images of turbid media in linearly polarized light: estimation of the anisotropy factor," *Appl. Opt.* **47**(31), 5811–5820 (2008).
15. W. F. Cheong, S. A. Prahl, and A. J. Welch, "A review of the optical properties of biological tissues," *IEEE J. Quant. Electron.* **26**(12), 2166–2185 (1990).



## VI. VERS UN SONDAGE POLARIMETRIQUE EN TROIS DIMENSIONS EN MILIEU DIFFUSANT

Dans le paragraphe précédent nous avons étudié la relation entre une mesure surfacique d'un milieu diffusant, semi-infini et ayant des propriétés optiques proches de celles des tissus biologiques, ainsi que la profondeur de pénétration de la lumière polarisée mesurée en rétrodiffusion. Pour aller plus loin et remonter à une information réellement tri-dimensionnelle, nous cherchons tout d'abord à établir le même type de relation entre l'intensité mesurée en rétrodiffusion et le *volume* (non plus simplement la profondeur) effectivement sondé. Nous examinons l'influence de l'ellipticité de polarisation sur la forme du volume sondé. Nous discutons ensuite de l'adaptation de la technique et de son adaptation à une technique récente d'imagerie tridimensionnelle indirecte appelée Tomographie de Projection Optique ou « Optical Projection Tomography (OPT) ». Nous introduisons pour cela la quantité représentative du trajet des photons dans le milieu, la densité de diffusion des photons (Photon Scattering Density Function en Anglais, PSDF), exprimée ici, à notre connaissance pour la première fois, en la lumière polarisée. Nous présentons les cartographies 3D de ces densités de diffusion de photon, qui permettraient, tout comme en DOT, de remonter à la localisation d'une inclusion dans une approche perturbative par mesure de l'écart au cas homogène. Pour cela, nous proposons deux configurations expérimentales possibles. La mise en œuvre de la procédure est en cours d'étude et non publiée à l'heure actuelle.

### SONDAGE POLARIMETRIQUE TRIDIMENSIONNEL GRACE A UNE MESURE EN RETRODIFFUSION

L'imagerie en rétrodiffusion est souvent la seule alternative dans le diagnostic *in vivo* des tissus biologiques. Les problèmes liés à l'examen d'un tissu en rétrodiffusion sont multiples. La détection des photons peut se faire uniquement sous des angles très restreints, généralement inférieurs à 180° autour de la zone d'intérêt. Comme exemple d'une telle situation, on peut citer le diagnostic optique du cancer de l'œsophage ou celui de l'utérus. Un autre problème possible est l'éblouissement dû à la réflexion spéculaire, spécialement pour l'examen de la peau comme c'est le cas pour le diagnostic des mélanomes.

En matière de sondage, tout dépend de l'information à laquelle on souhaite remonter. Deux approches sont été étudiées :

- La première est une généralisation de l'approche précédente, dans laquelle nous cherchons simplement à examiner l'extension spatiale, dans toutes les directions, du *volume moyen* sondé correspondant, examiné dans un canal de polarisation donné pour une illumination ponctuelle. On construit ainsi un « histogramme » tri-dimensionnel de la *position moyenne* occupée par les photons détectés dans un canal d'imagerie donné. Cette approche a l'avantage de donner une indication rapide sur la profondeur sondée.
- Dans la seconde, toutes les positions prises par chaque photon au fil de leur trajectoire sont sauvegardées. On construit ainsi un « histogramme », également tri-dimensionnel, de la présence de photons dans chacun des voxels à chaque événement de diffusion. On parle de fonction de densité d'événements de diffusion de photon (en Anglais Photon scattering density function, PSDF). Elle est bien connue lorsque l'on traite le problème en lumière non-polarisée. Dans la mesure où cette quantité conserve l'information sur les



trajectoires possibles des photons, elle permet d'accéder à davantage d'information que la simple connaissance d'un volume moyen. Formellement, cette quantité permet de faire le lien entre la source et un point donné de collection. A l'aide d'un algorithme d'inversion, linéaire ou non-linéaire, on peut remonter à la reconstruction des propriétés optiques du milieu. Nous l'exprimons ici en lumière polarisée, ceci devrait avoir pour effet d'introduire un filtre spatial sur la reconstruction des propriétés optiques, dans la mesure où, de fait, le trajet des photons passe au travers du filtre polarimétrique. Pour cette approche, nous avons étudié deux géométries d'acquisition : la première est la même que ci-dessus, à savoir une source ponctuelle, avec une collection large (quelle que soit la position de sortie du photon à la surface du milieu); la seconde suppose une source et un détecteur ponctuel, ce qui nous permet d'aller vers la formulation du problème tomographique.

Dans ce qui suit nous nous restreignons au cas où le milieu est homogène et semi-infini et ses propriétés optiques sont connues à l'avance.

## VOLUME MOYEN

De façon plus générale que dans la partie précédente, pour représenter le volume sondé par un photon émergeant en un point de la surface, nous choisissons ici de retenir le barycentre de tous les points de la trajectoire comme position représentative de la zone sondée. La quantité rétrodiffusée  $S_i W_i$  du photon  $i$  (vecteur de Stokes final pondéré par le poids du photon) est affectée à la position du barycentre (Figure 64). Le vecteur de Stokes  $S_i$  représente l'état de polarisation et le poids  $W_i$  représente la probabilité de survie du photon (non absorbé, même approche (Tseng et al. 2009) que pour la profondeur moyenne sondée). Plus le photon a fait un long trajet dans le milieu, plus le poids  $W_i$  est faible.

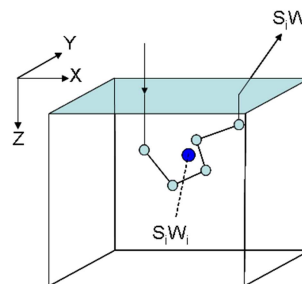


Figure 64: Schéma de principe pour obtenir la position moyenne du trajet d'un photon rétrodiffusé. La quantité  $S_i W_i$  (vecteur de Stokes final pondéré) rétrodiffusée est sauvegardée et affectée au barycentre du trajet, représenté en bleu foncé.

De la même façon que précédemment, nous cherchons à trouver une relation entre l'intensité du flux des photons émergeant à la surface (Figure 65 Haut) et la position du barycentre de leurs trajectoires dans le milieu (Figure 65 Bas). De la même façon que précédemment, nous cherchons à représenter le volume sondé à l'aide du même type de descripteur ( $Z_c$ ) introduit dans le paragraphe précédent.

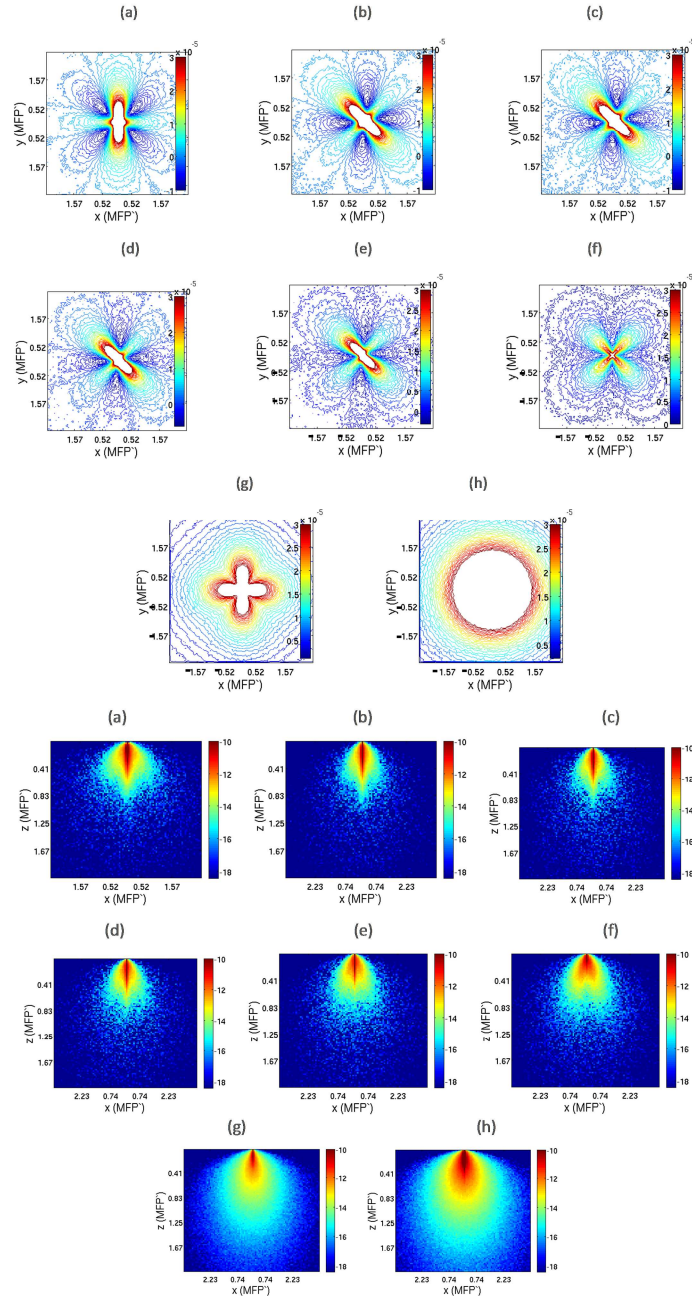


Figure 65: Haut : Intensités rétrodiffusées, normalisées par le nombre de photons lancés dans le milieu ( $10^8$  photons) et l’affichage des courbes est limité aux valeurs entre  $10^{-5}$  et  $3 \times 10^{-3}$  avec un pas de  $10^{-6}$  (u.a.) entre courbes de niveau, avec les polarisations : (a) linéaire horizontal, (b) linéaire  $45^\circ$   $\epsilon=0\pi$ , (c) elliptique  $\epsilon=0.05\pi$ , (d) elliptique  $\epsilon=0.1\pi$ , (e) elliptique  $\epsilon=0.15\pi$ , (f) circulaire  $\epsilon=0.25\pi$ , (g) multiples diffusés (polarisation perdue) et (h) sans polarisation. Bas : Représentation du volume sondé par le descripteur  $Z_c$  (10% du maximum). Coupe transversale horizontale pour la polarisation (a) linéaire, coupe transversale diagonale pour les polarisations (b) elliptique ( $\epsilon=0\pi$ ), (c) elliptique ( $\epsilon=0.05\pi$ ), (d) elliptique ( $\epsilon=0.1\pi$ ), (e) elliptique ( $\epsilon=0.15\pi$ ), (f) circulaire ( $\epsilon=0.25\pi$ ), (g) dépolarisé et (h) sans polarisation. Echelle logarithmique limitée entre les valeurs  $\exp(-18)$  et  $\exp(-10)$ , seules les valeurs positives, correspondant à un maintien de la polarisation initiale, sont représentées.

Les coupes transversales de la Figure 65 permettent de visualiser l’ensemble de la distribution de l’intensité en profondeur et latéralement. L’examen de ces courbes nous indique que l’extension dans le volume se fait davantage latéralement qu’en profondeur, selon les résultats des calculs du paragraphe précédent sur la profondeur de pénétration. Cette extension latérale nous amène à pondérer les conclusions précédemment énoncées. En effet, les



conclusions de l'étude précédente étaient basées sur l'exploitation de l'information sur la profondeur seule, ce qui revient à une projection sur l'axe z de l'information spatiale (Figure 66). Les conclusions du chapitre précédent sont donc justes si l'on considère l'information globale, correspondant à une mesure effectuée à l'aide d'un faisceau d'illumination **homogène et infiniment large**.

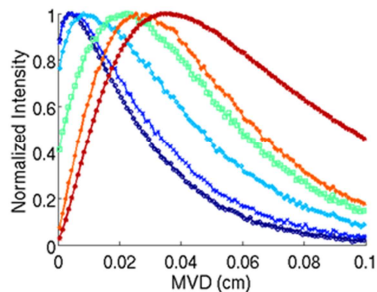


Figure 66: Profondeur moyenne sondée ( $\mu_s=50\text{cm}^{-1}$ ,  $\mu_a=0.5\text{cm}^{-1}$ ,  $g=0.8$ ), obtenu par projection des valeurs de la Figure 65 Bas sur l'axe Z.

### EVOLUTION DU VOLUME SONDE SELON LA POLARISATION

En appliquant un seuillage à la Figure 65 Bas, on peut suivre l'évolution de la forme du volume sondé en fonction du canal d'imagerie choisi (polarisation). Un exemple est représenté sur la Figure 67.

Ellipticité de polarisation	Vue de dessus	Vue de côté	Vue 3D
$\varepsilon=0.00\pi$			
$\varepsilon=0.1\pi$			
$\varepsilon=0.25\pi$ (circulaire)			

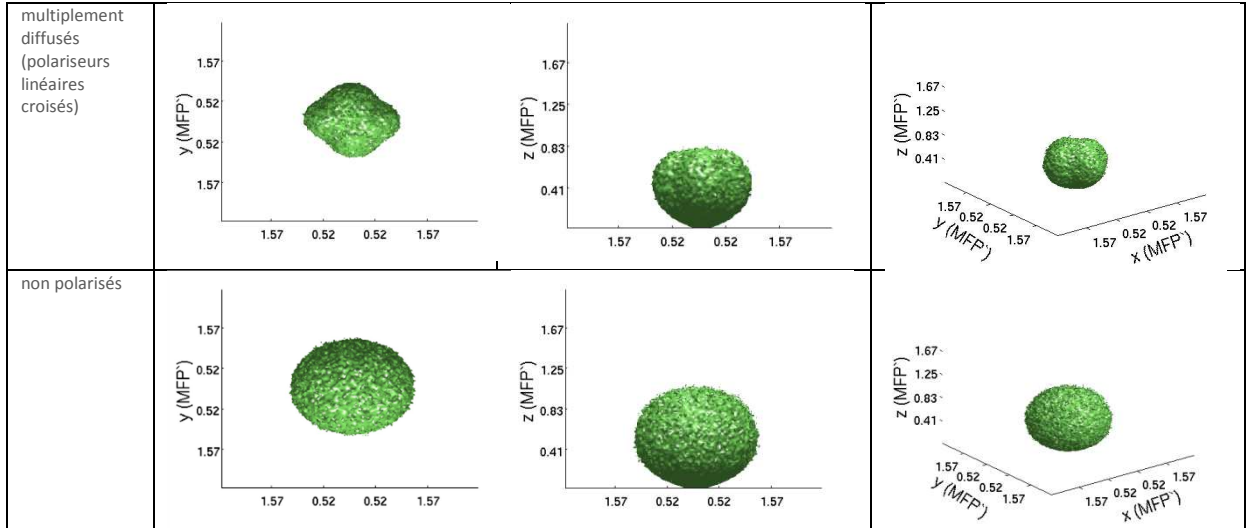


Figure 67 : Evolution du volume sondé en fonction du canal polarimétrique choisi. Mêmes paramètres que Figure 65, pour un seuillage à  $10^{-6}$  (u.a.)

On note ainsi une expansion du volume sondé, avec des modifications morphologiques plus complexes que la simple dilatation. Le choix de ce seuillage est en cours d'évaluation et nécessite une étude spécifique en fonction des propriétés optiques. Pour ce qui concerne l'évolution de ces volumes en fonction des propriétés optiques, les conclusions du chapitre précédent s'appliquent ici également, du moins du point de vue qualitatif: avec un facteur d'anisotropie plus important, les volumes seront plus étendus en profondeur, tandis qu'un coefficient d'absorption plus important réduira ces volumes, un coefficient de diffusion plus important diminuera l'étendue en profondeur, mais élargira l'étendue latérale des volumes. Le facteur d'anisotropie est le facteur le plus susceptible de modifier la morphologie de ces volumes. (Falconet *et al* 2008) ont d'ailleurs exploité ces modifications pour déterminer le facteur d'anisotropie des milieux diffusants. Nous avons montré que grâce aux différents filtrages en polarisation, il est possible de sonder un milieu diffusant avec des volumes de formes complexes, ce qui permet d'envisager des modes de sondage non-conventionnels.

#### FONCTION DE DENSITE DE DIFFUSION DES PHOTONS POLARISES

Classiquement définie et utilisée en optique diffuse non polarisée, cette fonction représente la densité de probabilité de présence dans le volume des photons mesurés dans une configuration de mesure donnée. Nous l'avons simplement redéfinie pour qu'elle soit utilisable pour l'analyse de la lumière polarisée. Nous avons pour cela suivi la démarche de (Bevilacqua et al. 2004) utilisant la méthode de Monte Carlo pour générer cette fonction de densité de diffusion de photon (en Anglais Photon scattering density function, PSDF).

La Figure 68 schématise la démarche et donne les notations. Le poids initial du photon injecté est  $W=1$ . Il décroît avec la longueur du trajet du photon, et au moment de la détection  $t_i$  du photon  $i$  son poids s'écrit :  $W_i = \exp(-\mu_a c t_i)$ . L'intervalle de temps  $[0, t]$  contient tous les photons détectés. Pour chaque photon  $i$ , on sauvegarde les positions  $p_{ij}(x,y,z)$  de chaque événement de diffusion  $j$  dans une matrice 3D  $v_i(x,y,z)$ . Le nombre total d'événements de diffusion de chaque photon  $i$  est noté  $N_i$ . Une sommation sur les matrices  $v_i$  compte dans chaque voxel, le nombre de diffusions réalisées par l'ensemble des photons à cet endroit. La normalisation par le volume simulé de la matrice permet d'écrire une densité volumique.

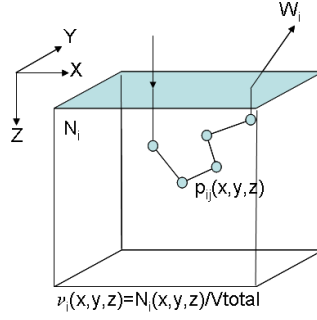


Figure 68: Notations pour la définition de la PSDF.  $v_i$  : cartographies 3D des événements  $p_{ij}(x, y, z)$  de diffusion pour chaque photon  $i$ .  $N_i$  : Nombre des diffusions pour le photon  $i$ .  $W_i$  : poids final du photon  $i$  lors de sa détection.

On peut décrire la PSDF non polarisée (Bevilacqua et al. 2004):

$$\sigma(x, y, z, s) = \sum_{\forall i} \frac{W_i}{N_i(x, y, z)} v_i(x, y, z)$$

Le terme  $W_i / N_i(x, y, z) \cdot v_i(x, y, z)$  désigne une pondération de chaque élément de la matrice  $v_i$  avec la fraction du poids final  $W_i$ . Cela revient à dire que le poids final  $W_i$  est réparti sur les positions où il y a eu une diffusion pour le photon  $i$ .

En lumière polarisée, nous introduisons une pondération de la matrice  $v_i(x, y, z)$  avec le vecteur de Stokes final. Concrètement, cela génère quatre PSDFs pour chacune des composantes du vecteur de Stokes  $S = [I, Q, U, V]^T$ . Les densités de diffusion des photons prenant en compte la polarisation se définissent comme :

$$\begin{aligned} \sigma_I(x, y, z, s) &= \sum_{\forall i} \frac{W_i}{N_i(x, y, z)} v_{Ii}(x, y, z) \\ \sigma_Q(x, y, z, s) &= \sum_{\forall i} \frac{W_i}{N_i(x, y, z)} v_{Qi}(x, y, z) \\ \sigma_U(x, y, z, s) &= \sum_{\forall i} \frac{W_i}{N_i(x, y, z)} v_{Ui}(x, y, z) \\ \sigma_V(x, y, z, s) &= \sum_{\forall i} \frac{W_i}{N_i(x, y, z)} v_{Vi}(x, y, z) \end{aligned}$$

Dans la suite, nous appelons l'ensemble de ces équations « fonctions de densité de diffusion des photons polarisés » (nous utilisons le terme anglais par la suite : PPSDF pour Polarized Photon Scattering Density Function). La PPSDF représente la distribution spatiale de la densité d'événements de diffusion subis par le photon détecté dans un état de polarisation donné.

En comparant cette représentation du volume sondé par rapport à celle que nous avons introduite plus haut, la PPSDF est plus riche d'information sur le trajet suivi par les photons. À partir de la PPSDF, on peut remonter à des paramètres intégrés, comme par exemple en déduire une carte de profondeurs moyennes :

$$\langle z \rangle_{I, Q, U \text{ ou } V}(x, y) = \int_0^\infty \sigma_{I, Q, U \text{ ou } V}(x, y, z) z dz$$

Dans une approche perturbative de détermination de propriétés optiques, c'est également la PPSDF qui est susceptible d'être utilisée pour rendre compte du trajet des photons. La représentation précédente a cependant l'avantage d'une estimation rapide du volume sondé pour un filtre polarimétrique donné.

Nous choisissons de simuler un cas spécifique de propriétés optiques proches des propriétés optiques de la peau (Tseng et al. 2009) : coefficient de diffusion  $\mu_s=50 \text{ cm}^{-1}$ , coefficient d'absorption  $\mu_a=0.5 \text{ cm}^{-1}$  et facteur d'anisotropie  $g=0.8$ , indice de réfraction  $n=1.4$ . Pour ces simulations le milieu est homogène et semi-infini. Deux configurations sont retenues, avec une illumination ponctuelle sous incidence normale (Figure 69):

- **méthode 1** : on considère un détecteur 'large', les photons sont collectés en sortie indépendamment de leur position au niveau de l'interface et indépendamment de leur direction ;
- **méthode 2** : on considère un détecteur ponctuel, les photons sont collectés en une position spécifique, mais toujours sans restriction sur leur direction de sortie.

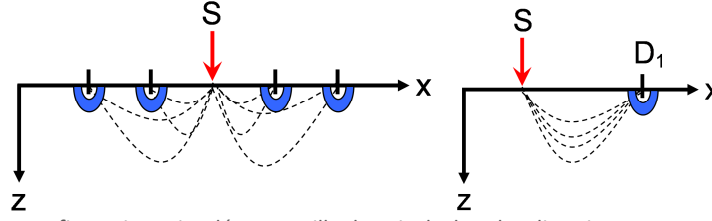


Figure 69: Schémas des configurations simulées. La taille des pixels dans les directions x et y est de 0.05 mm, 0.02mm en z, la source est localisée au pixel  $x=51$ ,  $y=51$ . Le volume sauvegardé est restreint à une matrice 3D de  $100 \times 100 \times 100$  pixels par souci d'espace de mémoire. Gauche, configuration pour la méthode 1 : La détection se fait sur  $100 \times 100$  pixels à la surface ; Droite, configuration pour la méthode 2 : La position de détection se trouve à une distance latérale  $\Delta x = 20$  pixels (1 mm).

#### PPSDF METHODE 1

La Figure 70 représente les coupes transversales de la distribution des PPSDF dans le milieu sondé ( $10^8$  photons lancés, dont environ  $7 \times 10^7$  photons sont rétrodiffusés).

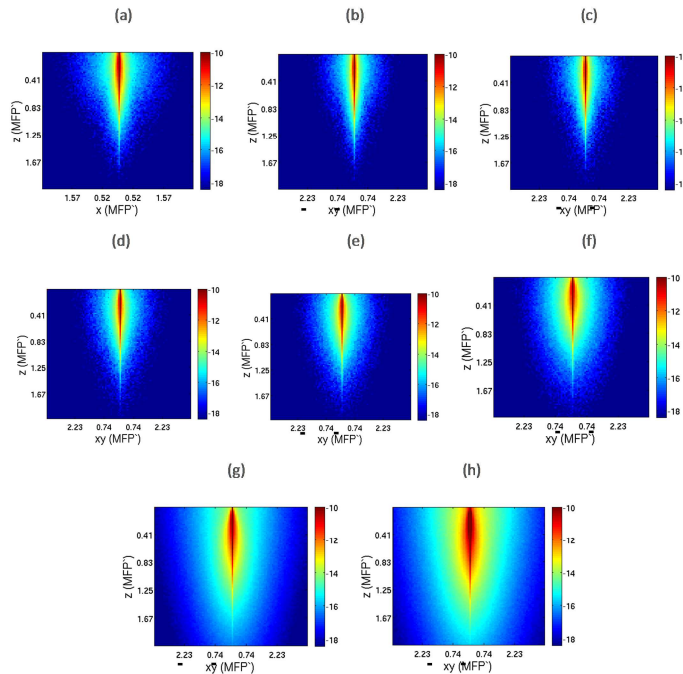


Figure 70 : Coupe transversale de la PPSDF. Coupe transversale horizontale pour la polarisation (a) linéaire, coupe transversale diagonale pour la polarisation (b) elliptique ( $\epsilon=0\pi$ ), (c) elliptique ( $\epsilon=0.05\pi$ ), (d) elliptique ( $\epsilon=0.1\pi$ ), (e) elliptique ( $\epsilon=0.15\pi$ ), (f) circulaire ( $\epsilon=0.25\pi$ ), (g) dépolarisé et (h) sans polarisation. L'intensité de la PPSDF est représentée sur une échelle logarithmique, limitée à des valeurs comprises entre  $1.5 \times 10^{-8}$  et  $4.5 \times 10^{-8}$  (u.a.) [ $\sim \exp(-18)$  et  $\exp(-10)$  (u.a.)]. L'échelle est en MFP' et l'échelle latérale est centrée sur la position de la source. La résolution de l'image est de  $50\mu\text{m}$  pour la direction x d'un pixel, et de  $20\mu\text{m}$  pour la direction z du pixel.

L'extension spatiale de la PPSDF est différente de la représentation décrite plus haut, mais l'évolution en fonction de l'ellipticité de polarisation est la même : l'extension spatiale augmente à mesure que l'ellipticité augmente.

En représentation volumique, avec un seuil fixé à  $10^{-7}$  [ $\sim \exp(-16)$ ], les différences entre les volumes sont encore plus flagrantes. L'expansion spatiale est globalement la même que pour la représentation du volume moyen (Figure 67).

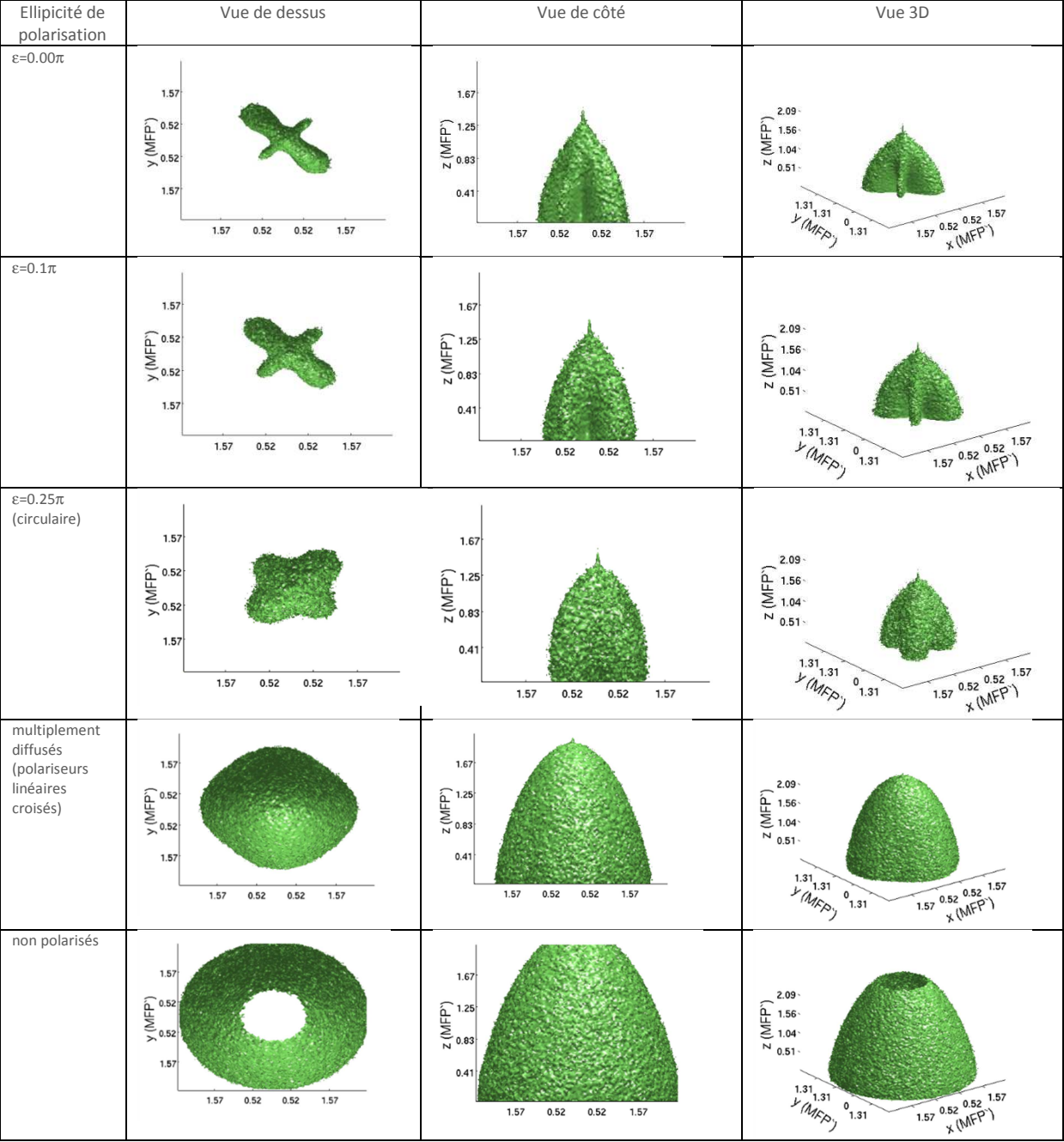


Figure 71 : Evolution de la PPSDF en fonction du canal polarimétrique choisi. Mêmes paramètres que Figure 70, pour un seuillage à  $10^{-7}$  (u.a.)

## PPSDF METHODE 2

Nous avons vu précédemment que les mesures en rétrodiffusion de la lumière polarisée, représentée sous forme de vecteurs de Stokes, faisaient apparaître des figures spécifiques d'intensité, avec des valeurs positives correspondant à un maintien de polarisation et des

valeurs négatives, à une perte de polarisation. Par conséquent, pour une mesure optimale, nous devons placer le détecteur dans une région surfacique pour laquelle les valeurs des mesures sont les plus fortes. Cette position du point de détection dépend donc de la polarisation utilisée. Pour la polarisation linéaire à  $0^\circ$ , les valeurs positives sont dans les directions des axes  $x$  et  $y$ , quant aux polarisations elliptiques, avec un axe à  $45^\circ$ , les positions du détecteur permettant d'obtenir des valeurs positives pour la polarisation maintenue sont selon les quatre bissectrices (Figure 65 Haut). La position du détecteur a été choisie pour cette étude à une distance de  $1.04 \text{ MFP}'$  de la source, ce qui correspond à une distance raisonnable du point de vue de l'intensité mesurée (ni trop forte, ni trop faible) et du point de vue du temps de calcul. Dans le cas de cette méthode, la statistique est beaucoup plus faible (détection en un seul pixel) : sur  $10^9$  photons lancés, seuls  $1.60 \times 10^4$  photons sont détectés. La Figure 72 montre une coupe transversale de la PPSDF dans l'axe sur laquelle se trouvent la source et le détecteur.

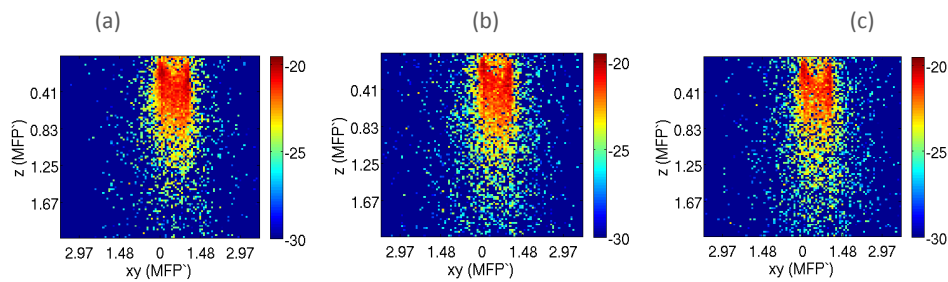


Figure 72: Coupe transversale de la PPSDF pour une paire source détecteur. La polarisation maintenue (a) linéaire, (b) elliptique  $\varepsilon=0.1\pi$  et (c) circulaire sont représentées. L'échelle latérale est centrée sur la position de la source et l'échelle de l'intensité est limitée aux valeurs entre  $9 \times 10^{-14}$  et  $2 \times 10^{-9} [\exp(-30) \text{ et } \exp(-20)]$ .

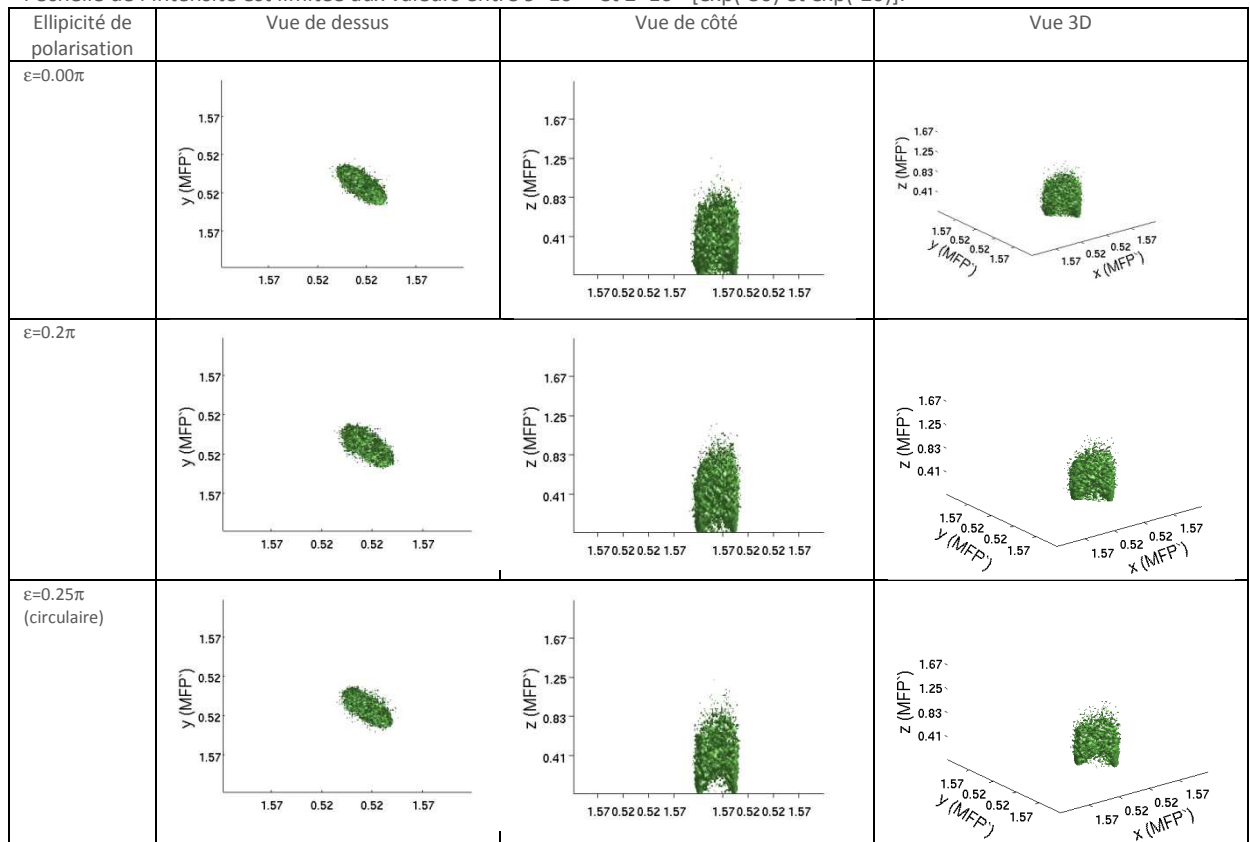


Figure 73: Représentation en trois dimensions de la PPSDF pour une paire source détecteur à la valeur d'intensité  $2 \times 10^{-9}$  (u.a.). La polarisation maintenue est circulaire droite et la vue de la PPSDF se fait (a) le long de l'axe  $z$ , (b) latéralement, (c) diagonalement.



Même si on voit apparaître une zone vide entre la source et le détecteur en comparant la polarisation circulaire et linéaire, la statistique n'est pour le moment pas suffisante pour conclure. Les temps de calculs sont pour le moment prohibitifs. Des méthodes de calcul plus appropriées sont à l'étude (voir conclusion).

## VERS UNE IMAGERIE 3D RESOLUE EN POLARISATION : ETAT DE L'ART

### APPLICATION A LA TOMOGRAPHIE DE PROJECTION OPTIQUE

---

La tomographie de projection optique (en Anglais Optical Projection Tomography, OPT) est une méthode d'imagerie 3D développée depuis une dizaine d'années et qui prend de plus en plus d'importance dans le domaine biologique et médical. L'OPT peut être considérée comme l'adaptation de la « Computerized Tomography (CT) » dans le domaine de la tomographie par rayons X, au domaine de l'imagerie optique, à l'échelle mésoscopique. Les échantillons examinés par la lumière transmise ont généralement une taille comprise entre 1 et 10 mm (Rieckher et al. 2011) et la méthode permet d'obtenir une résolution de 5 à 10  $\mu\text{m}$  (Sharpe et al. 2002). L'utilisation de l'OPT est réservée traditionnellement à des spécimens ayant une très faible diffusion, comme par exemple des embryons car, comme son nom l'indique, elle analyse la projection des photons. Il existe des variantes de l'OPT avec des méthodes qui permettent une application à des milieux turbides (Vasefi et al. 2009). Elle est actuellement le seul outil permettant de collecter à la fois l'information morphologique et moléculaire avec un même instrument (Birk et al. 2011), ce qui est un grand avantage pour certaines applications par rapport aux techniques concurrentielles comme la microCT, microMRT ou OCT (Sensen and Hallgrímsson 2008). L'introduction d'un filtrage polarimétrique doit permettre ainsi de filtrer les photons balistiques ou serpentiles qui sont nécessaires pour l'OPT. L'utilisation des polarisations linéaire, elliptique et circulaire, devrait permettre d'obtenir des images avec une résolution accrue et modulable.

### APPLICATION DE LA POLARIMETRIE POUR LA RECONSTRUCTION DES PROPRIETES OPTIQUES

---

Le filtrage polarimétrique a été utilisé très récemment pour faire la reconstruction de certaines propriétés optiques, ceci témoigne de l'intérêt actuel de nos travaux. Il a été montré que grâce à la polarisation linéaire, le coefficient de transport  $\mu_t = \mu_a + \mu_s$  et l'albedo peuvent être reconstruits (Soloviev et al. 2012). Dans cette approche, l'ETRV est approximée pour réaliser la procédure d'imagerie tomographique en transmission :

- le milieu diffusant contient des régions fortement et faiblement diffusantes qui diffèrent par leur coefficient de transport dans l'ordre de magnitude.
- la fonction de phase de Rayleigh est utilisée, soit la forme la plus simple de la matrice de phase, mais qui décrit suffisamment bien la loi de diffusion dans le cas étudié.
- Le terme source de l'ETRV contient l'intensité de la lumière sous la forme d'un vecteur avec les paramètres du vecteur de Stokes pour la description de la polarisation. Il montre que les paramètres U et V du vecteur de Stokes peuvent être négligés pour la lumière linéairement polarisée, ce qui simplifie de nouveau le terme source de l'ETRV.

Ainsi simplifiée, l'ETRV est résolue numériquement par la méthode des éléments finis. A l'aide d'un algorithme de reconstruction (Soloviev and Arridge 2011), on peut remonter au coefficient de transport et à l'albedo. Il est ainsi possible, grâce à la polarimétrie, de reconstruire des paramètres optiques du milieu analysé. On imagine aisément que l'utilisation d'autres polarisations devrait permettre d'accéder à davantage d'information.

Alternativement, si le milieu est homogène, il a été montré que la mesure de la lumière polarisée linéairement rétrodiffusée permet l'obtention du coefficient de diffusion réduit et du facteur d'anisotropie (Falconet et al. 2007; Falconet, Sablong, Perrin, Jaillon et al. 2008; Falconet, Sablong, Perrin, and Saint-Jalmes 2008). Pour obtenir ces propriétés optiques, les figures d'intensité surfacique doivent être analysées.

Une fois les propriétés optiques moyennes connues, la tomographie optique pourrait être réalisée grâce à des mesures réalisées dans différentes configurations de paires source-détecteur. La distance entre source et détecteur ainsi que la polarisation d'illumination choisie permettront un sondage adapté à la profondeur et au volume souhaité.

## VII. CONCLUSION

Nous avons proposé ici une méthode d'imagerie polarimétrique nouvelle pour l'examen des tissus biologiques.

Pour les besoins de notre étude, nous avons implémenté des modifications substantielles un code de Monte Carlo de référence. Grâce à ces modifications nous disposons aujourd'hui d'un code de calcul plus performant, plus flexible et mieux adapté. Pour les propriétés optiques utilisées, l'obtention de l'information en profondeur et l'image rétrodiffusée du milieu semi-infini correspond à un temps de calcul limité (de l'ordre d'une heure). Le calcul permettant une représentation tri-dimensionnelle du volume sondé demande plus de temps (de l'ordre de plusieurs heures). Nous nous orientons donc vers une approche différente pour ces calculs (Monte Carlo avec utilisation de GPU, résolution numérique ou semi-analytique de l'ETRV).

Ce code nous a ainsi permis de mener une étude originale sur l'opportunité de l'utilisation de la lumière polarisée elliptiquement dans le sondage des tissus biologiques. Afin de couvrir le plus grand spectre d'applications possibles dans le domaine de l'imagerie biomédicale optique, l'étude couvre une gamme de propriétés optiques très large. Nous introduisons pour cette étude deux descripteurs, représentatifs respectivement de la profondeur sondée ( $Z_c$ ) et de l'extension en surface ( $R_c$ ) du signal, grandeur effectivement mesurable. Nous montrons que la profondeur de sondage augmente en fonction de l'ellipticité de polarisation, ceci quel que soit le type de diffuseurs composant le tissu. De plus, nous établissons, à l'issue de cette étude, une relation linéaire approchée, très simple, reliant l'extension de la mesure en surface, mesurable, à la profondeur sondée, connaissant les propriétés optiques du milieu. Ceci a déjà été rapporté dans la littérature pour la polarisation linéaire. Nous montrons ici que ce comportement est le même quelle que soit la polarisation utilisée. Ceci facilitera la résolution du problème inverse de localisation de structures dans le milieu.

Enfin, nous proposons un raffinement de la méthode pour remonter à une information tridimensionnelle complète. Ceci nous permet d'examiner en trois dimensions l'extension spatiale de la lumière polarisée mesurée en rétrodiffusion. Nous n'avons pas trouvé dans la



littérature ce genre de représentation pour la lumière polarisée. Nous proposons ainsi deux types de configurations de sondage :

-la méthode 1, utilisant une source ponctuelle avec une matrice de détection étendue. Pour une mesure surfacique donnée, on sait que la source de signal provient d'un volume spécifique, déterminé par l'ellipticité de polarisation utilisée et par les propriétés optiques du milieu. Cette technique doit permettre de mieux caractériser les tissus biologiques localement. Les méthodes de caractérisation actuelles se basent en effet sur l'hypothèse que le milieu est plan et semi-infini. Dans la mesure où le volume de sondage délimité ici est petit, on pourra ainsi mieux évaluer les propriétés optiques des tissus biologiques superficiels *in vivo*, à différentes profondeurs.

-la méthode 2 fonctionnant en mono-source et mono-détecteur. La profondeur de sondage dépend ici de deux facteurs : la distance source-détecteur, ceci quelle que soit la polarisation, et l'ellipticité de polarisation. Ce double filtrage (spatial, polarimétrique) doit permettre d'obtenir des images tomographiques de haute résolution. La méthode que nous avons exposée est simple mais ne donne pas d'information sur le trajet suivi par les photons. Pour cela, nous introduisons la définition de quantités, connues en tomographie optique diffuse classique, non polarisée, à savoir la densité de photon (PSDF), et adaptées ici à l'utilisation de la lumière polarisée que nous notons PPSDF. Celles-ci devraient permettre d'affiner les fameuses courbes en forme de « banane » des PSDF non polarisées rencontrées en tomographie optique diffuse.

Ce travail a ainsi favorisé la compréhension du phénomène de propagation de la lumière polarisée dans les tissus biologiques. Les méthodes exposées sont prometteuses et demandent à être approfondies théoriquement, en particulier en ce qui concerne la méthode 3D, et validées par une étude expérimentale spécifique.

Le dispositif expérimental est en cours de modification pour une plus grande flexibilité. Une combinaison de lames à cristaux liquides va nous permettre d'effectuer des mesures plus fiables de manière plus flexible et plus rapide. Ceci nous permettra d'aller plus aisément vers les applications *in vivo* avec notamment l'imagerie fonctionnelle du cortex cérébral chez le rat, dans le cadre de la collaboration engagée avec I. Vanzetta (INT, Marseille). L'utilisation de ce filtrage polarimétrique permet de limiter le volume dans lequel s'effectuent les mesures et, idéalement, de localiser plus précisément la source de perturbation du signal. Les résultats préliminaires me confortent quant au fait que ce dispositif devrait permettre d'obtenir une meilleure quantification de la variation des propriétés hémodynamiques lors du suivi des activations neuronales. Une nouvelle caméra récemment acquise (Orca flash 4, Hamamatsu) doit également nous permettre d'effectuer des acquisitions d'image à plus grande fréquence, ce qui nous permet d'envisager des applications dans le domaine de la diffusion dynamique, avec l'étude du speckle en éclairage cohérent, dans le cadre de ma collaboration avec T. Durduran de l'ICFO (Barcelone) dans l'encadrement de la thèse de C. Valdes-Escobar (Erasmus-Mundus Doctorate, 2011-2014) et dans celle de S. Sridhar (Erasmus-Mundus Doctorate, 2013-2016) qui doit débiter le 1<sup>er</sup> octobre 2013. L'idée est d'ajouter une information sur la profondeur à la fluxmétrie par analyse du speckle, technique d'imagerie indirecte 2D, Laser Speckle Flowmetry en Anglais, permettant de remonter à une cartographie des contrastes de speckle pour la convertir en flux.

Elle est appliquée ici à l'imagerie du cortex du petit animal pour le suivi de pathologies cérébrales telles que l'AVC (accident Vasculaire Cérébral).

Un travail conséquent doit également être réalisé en matière de traitement du signal. En effet, rappelons que la méthode est basée sur des soustractions d'images. Pour le moment, le traitement des données se fait de manière conventionnelle : les mesures sont moyennées sur un nombre fixé d'acquisitions répétées et des marqueurs métalliques fixés près de l'échantillon et mesurés dans le champ de vision permettent de faire un recalage simple. Une approche plus sophistiquée devrait permettre de gagner en fiabilité et en reproductibilité.

## VIII. REFERENCES

- Chandrasekhar, S., 1960. Radiative transfert. Dover publication.
- Da Silva, A., 2010. L'imagerie Optique, in: Fanet, H. (Ed.), Imagerie Médicale à Base de Photons, Radiologie, Tomographie X, Tomographie Gamma et Positons, Imagerie Optique,. Hermès, p. 303–.
- Da Silva, A., Deumie, C., Vanzetta, I., 2012. Elliptically polarized light for depth resolved optical imaging. Biomed. Opt. Express 3, 2907–2915.
- Ishimaru, A., 1978. Wave propagation and scattering in random media. Academic, New York.
- Kattawar, G., Hitzfeld, S., Brinstoc, J., 1973. Explicit form of Mie phase matrix for multiple scattering calculations. J. Atmospheric Sci. 30, 289–295.
- Ramella-Roman, J.C., Prahl, S.A., Jacques, S.L., 2005. Three Monte Carlo programs of polarized light transport into scattering media: part I. Opt. Express 13, 4420–4438.
- Rehn, S., 2012. Imagerie sélective des tissus biologiques: Apport de la polarisation pour une sélection en profondeur. Aix-Marseille Université, Grenoble.
- Rehn, S., Planat-Chretien, A., Berger, M., Dinten, J.-M., Deumie, C., da Silva, A., 2013. Depth probing of diffuse tissues controlled with elliptically polarized light. J. Biomed. Opt. 18.
- Tromberg, B.J., Cerussi, A., Krasieva, T., Venugopalan, V., Chen, Z., 2005. Multi-Dimensional Optical Imaging in Thick Tissues: Contrast across spatial scales. Presented at the Tissue repair and ulcer/wound healing: molecular mechanisms, therapeutic targets and future directions.



# CHAPITRE 4 : IMAGERIE MULTIONDES : MAMMOGRAPHIE PHOTOACOUSTIQUE

## CONTENU

Chapitre 4 : Imagerie multiondes : Mammographie photoacoustique.....	151
I. Etat de la technique .....	155
II. Imagerie photoacoustique : Formalisme.....	158
Résolution du problème direct.....	159
Résolution du problème inverse.....	166
III. Etude sur l'optimisation de la géométrie d'acquisition des données expérimentales .....	168
Optimisation de la distribution des transducteurs .....	168
Optimisation de la distribution des sources .....	171
IV. Prise en compte des inhomogénéités acoustiques : faisabilité d'un scanner opto-échographique .....	171
Principe .....	172
Localisation de l'objet : résolution du problème inverse .....	174
Reconstruction de l'objet : résolution du problème inverse.....	175
V. Banc de mesure photoacoustique.....	176
Banc de mesures préliminaires .....	176
Modifications.....	177
VI. Conclusion .....	178
VII. Références .....	179

Le cancer du sein est le plus commun chez les femmes ; chaque année, plus de 450 000 femmes sont diagnostiquées (Tirona MT et al., 2010). Les techniques conventionnelles de dépistage sont la mammographie par rayons-X et l'échographie, techniques permettant d'accéder, en premier lieu, à une information morphologique. La discrimination entre forme maligne et bénigne de la pathologie est ici essentiellement basée sur l'analyse de ces modifications structurales, complétée en générale par une biopsie. Aujourd'hui, ces techniques permettent d'accéder à des chiffres de sensibilité et de spécificité relativement bons (85%,(Berg et al., 2004)). En France, les chiffres de l'Institut National de Veille Sanitaire de 2011, montrent que, sur les 10 dernières années, malgré une augmentation du nombre de nouveaux cas, la mortalité baisse dans toutes les classes d'âge (en particulier chez les femmes jeunes et d'âge moyen), sauf pour les plus de 85 ans. Ceci s'explique incontestablement par le dépistage organisé. Il convient donc, d'une part, de poursuivre les efforts sur le développement de méthodes de diagnostic plus précoces des cancers de petite taille sans envahissement ganglionnaire; et d'autre part, d'améliorer l'efficacité des traitements disponibles au stade de la détection.

L'angiogénèse tumorale est un processus critique dans la croissance et la diffusion de la tumeur. Lors de ce processus, un réseau de micro-vaisseaux se forme pour alimenter la prolifération de cellules tumorales et favorise le développement de la tumeur (Bergers and Benjamin, 2003). La vascularisation tumorale joue donc un rôle crucial et doit être pris en considération dans la mammographie (McDonald and Choyke, 2003). Deux techniques non optique permettent d'accéder plus spécifiquement à la vascularisation tumorale : l'IRM de contraste dynamique (DCE-MRI pour Dynamic Contrast Enhanced MRI) et la mammoscintigraphie (Tableau 7). Le DCE-MRI est de loin l'examen le plus sensible et montre

effectivement que la vascularisation apporte des informations complémentaires sur la nature du tissu (Uematsu et al., 2008). Du fait de sa spécificité limitée, la technique requière cependant l'injection d'agents de contraste (de même que pour la scintigraphie). Notons également que ces deux techniques restent peu accessibles du point de vue financier et géographique.





		<b>Contraste</b>	<b>Avantages</b>	<b>Inconvénients</b>
<b>Mammographie par rayons X</b>		Détection de la désorganisation de l'architecture du sein, de masses ou de foyers de microcalcifications	Haute sensibilité	Compression du sein. Risques carcinogènes malgré faible énergie (entre 20 et 50 keV) Tumeur pas toujours détectable si parenchyme mammaire dense (femmes jeunes)
<b>Ultrasons</b>		Complément de la mammographie Cas particuliers: grossesse, allaitement, jeune âge	+ Examen accessible, bien toléré, + sans irradiation + peu coûteux + non limité par la densité mammaire + permet les prélèvements percutanés + association élasticité/réflexivité	- quantification → Tomographie
<b>IRM</b>		Détection de l'angiogénèse	+examen le plus sensible	- Accessibilité limitée - Coût élevé - Injection de produit de contraste → Examen limité aux femmes à haut risque
<b>Mammo-scintigraphie</b>		Lorsque les examens de référence ne permettent pas de conclure. Réservé à qqs cas rares: seins très denses, opérés, traités par radiothérapie, cicatrices, prothèse mammaire, recherche de plusieurs foyers tumoraux	+quantitatif (imagerie moléculaire)	- Compression du sein - Marqueur radioactif - Service de médecine nucléaire

Tableau 7 : Techniques conventionnelles d'examen du sein et leurs caractéristiques

Dans ce contexte, l'utilisation de la lumière rouge et proche –infrarouge (NIR pour near-infrared) dans la visualisation et le suivi non-invasifs du cancer gagne de l'intérêt, du fait de la possibilité d'accéder à une information fonctionnelle et moléculaire sans radiation ionisante. Des études montrent que la tomographie optique diffuse (DOT, Figure 74) permet de visualiser des pathologies malignes dans le sein (Choe et al., 2005), du fait de la forte absorption de l'hémoglobine dans le proche-infrarouge (spectre Chapitre 1 Figure 3 ). Cependant, le défaut majeur de la DOT est la faible résolution spatiale (au mieux 3 mm à quelques centimètres (Gibson and Dehghani, 2009)). Le couplage à d'autres modalités, comme les ultrasons (Zhu et al., 2010), IRM (Brooksby et al., 2003) ou mammographie par rayons X (Fang et al., 2011), permet d'améliorer la localisation et la résolution en introduisant un a priori anatomique.

**Spectroscopie**  
+ Information  
fonctionnelle  
+ Quantitative  
- Résolution  
- Couplage à une  
modalité d'imagerie  
anatomique



Fig. 3. Tomographic imaging systems developed for breast tumor characterization and imaging during therapy have been developed and large clinical trial results have been published. The commercial system from ART Inc. (see Ref. 15) is shown in a photograph (A), and research at Ultrasound resulted in the system shown in (B) (Ref. 16, 26, and 26), and a schematic of the system at the University of Pennsylvania is shown in (C) (Ref. 16 and 26). Each system uses multiple sets of measurements at multiple wavelengths of NIR light, transmitted through the tissue to reconstruct images of hemoglobin, oxygen saturation, water, and scattering values.

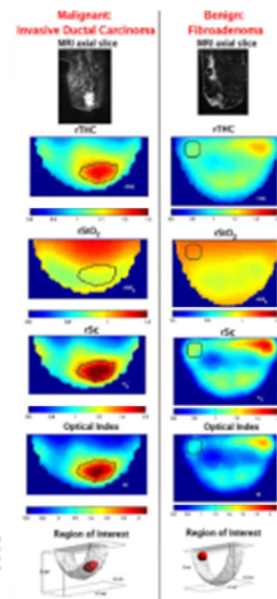


Figure 74 : Exemples de systèmes DOT pour l'examen du sein et caractéristiques

L'imagerie photoacoustique (PA) exploite de la même façon l'absorption de la lumière dans le spectre rouge/proche-IR mais offre la possibilité d'une meilleure résolution du fait de la détection ultrasonore (Beard, 2011; Mallidi et al., 2011). L'imagerie PA est sans doute, dans le domaine biomédical, la technique qui a connu le plus grand essor depuis ces dix dernières années (Figure 75).

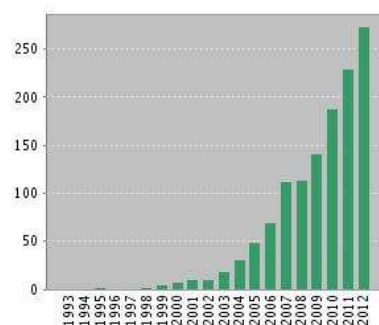


Figure 75 : Recherche sur ISI Web of Knowledge pour « Photoacoustic tomography »: publications jusqu'en 2012.

Ceci s'explique par le fait que la tomographie photoacoustique (TPA), en associant la spécificité de l'optique et la haute résolution spatiale de l'imagerie ultrasonore, offre, en théorie, la possibilité de pallier le manque de chacune des techniques.

En TPA, un faisceau lumineux présentant une variation temporelle en amplitude (pulsé ou modulé) illumine localement le tissu (Figure 76). L'onde PA, générée par expansion thermo-élastique du fait de l'échauffement local, est ensuite mesurée par des transducteurs ultrasonores large bande placés en périphérie. Les signaux PA collectés sont ensuite utilisés pour reconstruire la distribution des coefficients d'absorption optique (proportionnels à la concentration locale en chromophores, ce qui rend la technique quantitative, et éventuellement fonctionnelle).

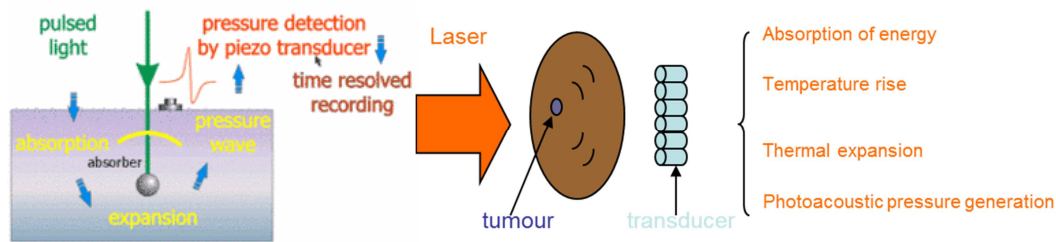


Figure 76 : Principe de la méthode photoacoustique avec illumination par lumière pulsée.

Cependant, compte-tenu des propriétés optiques (diffusant et/ou absorbant) des tissus sains par rapport aux tissus pathologiques, la source optique va diffuser dans l'ensemble du volume, avec une distribution non-homogène, instantanément du point de vue de l'échelle de temps acoustique. L'échauffement va être distribué, de manière non-homogène, dans tout le milieu. S'il existe localement un objet aux propriétés optiques (absorption, diffusion) différentes du milieu environnant, la distribution de chaleur va être modifiée localement et la modification de la propagation de l'onde acoustique générée localement par cet objet pourra être détectée. Le signal acoustique détecté est ainsi porteur de l'information sur la position de l'objet mais également sur ses propriétés optiques.

Dans cet environnement, c'est la technique qui me semble la plus appropriée pour le diagnostic et le suivi du cancer du sein, dans la mesure où, avec la seule mesure photoacoustique, elle offre potentiellement la possibilité d'accéder à la fois à une information **quantitative**, via la reconstruction des propriétés physiques (optique et acoustique), et une information **anatomique** : on n'est plus ici dans un couplage de modalités d'imagerie mais dans une approche de l'imagerie réellement multi-onde. Ceci n'est bien sûr réalisable qu'à condition que le rendement de conversion optique-acoustique soit suffisant.

C'est avant tout l'aspect **quantitatif** qui m'a interpellée et, à vrai dire, un peu frustrée au début car bien souvent, les reconstructions proposées dans la littérature ne tenaient pas compte de l'influence de la diffusion, par manque de couplage avec le modèle de propagation optique, se réduisant ainsi à un problème de localisation de sources acoustiques pour lequel mes compétences sont limitées. Il faut savoir que ce volet quantitatif n'est traité de manière exacte que depuis quelques années avec les travaux théoriques de (Bal and Uhlmann, 2010). Puis, j'y ai vu de fortes similitudes avec la DOT ou la FDOT résolue en temps: formellement, la propagation source-marqueur est modélisée exactement de la même façon, c'est la propagation marqueur-détecteur qui est remplacée ici par un phénomène de diffraction (Figure 77).

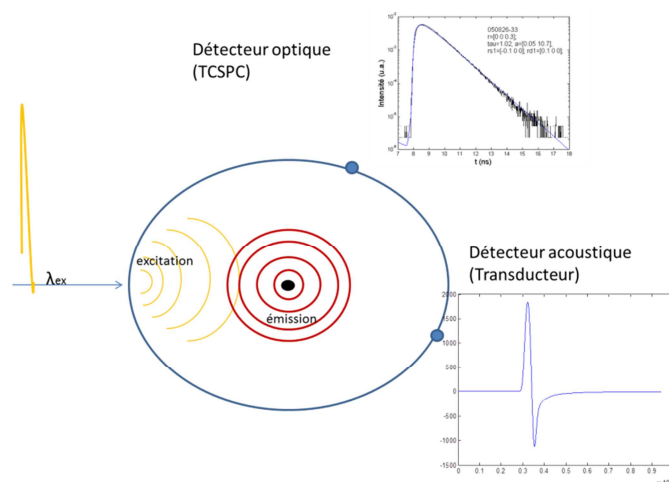


Figure 77 : Similitudes entre DOT résolue en temps et PAT

Dans la mesure où l'onde acoustique n'est que très faiblement diffusée au cours de sa propagation, la PAT permettrait d'obtenir des reconstructions plus précises des propriétés optiques.

Par ailleurs, la mesure se faisant par voie acoustique, il m'a semblé opportun d'exploiter le fait que le signal mesuré pouvait également être porteur d'une information **anatomique**. En particulier, sachant qu'une tumeur est également un corps inhomogène du point de vue acoustique (pour preuve, l'échographie), ceci permet d'améliorer la résolution du problème inverse en termes de localisation de tumeurs et de quantification des propriétés physiques.

J'ai ainsi choisi d'explorer les potentialités de cette technique, en collaboration avec l'équipe Ondes et Imagerie du LMA (CNRS UPR 7051), pour la mammographie. Nous avons bénéficié pour cela d'un petit financement en 2010 du CNANO PACA, qui nous a permis de financer la voie de mesure acoustique du banc expérimental et de réaliser nos premiers tests. Ningning Song a commencé sa thèse en 2011 (Ecole Centrale Marseille, financement du CSC) et met en place l'algorithmie de modélisation multiphysique (couplage du modèle de propagation optique et du modèle de propagation acoustique) et la reconstruction associée permettant d'étudier la faisabilité de la technique en termes de quantification et de dimensionner le dispositif de mesure tomographique. Depuis janvier 2013, nous bénéficions pour le projet d'un financement de l'ANR pour le projet AVENTURES (ANR SIMI1 2012 : Approches Variationnelles EN Tomographies Ultra-sonoRES), en partenariat avec le MAPMO (Orléans), l'ISAE (SupAéro, Toulouse) et le LMA (Marseille), dont l'objectif est d'appliquer des méthodes mathématiques variationnelles de résolutions de problèmes inverses à la PAT, à la TAT et à la tomographie US. En particulier, ce financement nous permet de travailler sur l'optimisation de l'illumination optique.

## I. ETAT DE LA TECHNIQUE

Au même titre que d'autres techniques spectroscopiques utilisant aujourd'hui des sources laser, la spectroscopie photoacoustique est bien plus ancienne qu'on ne le croit. En 1880, A. G. Bell (Bell, 1881, 1880) proposa son "spectrophone" (Figure 78), qui est sur le principe un spectroscope équipé d'un cône d'audition pour la détection. Ce n'est que dans les années 70 que Rosencwaig et Gersho (Rosencwaig and Gersho, 1976) posèrent les bases théoriques de l'effet photoacoustique dans les solides.

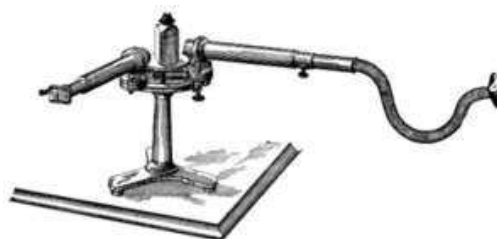


Figure 78 : Spectrophone proposé par A. G. Bell "pour l'examen de spectres d'absorption de corps dans les régions du spectre qui sont invisibles" en 1881.

La TPA pour l'examen des tissus biologiques est ainsi une technique relativement nouvelle et peu étudiée jusque vers la fin des années 1990 (Karabutov et al., 1996; Kruger, 1994; Oraevsky et al., 1994, 1997; Wang et al., 1999). Elle s'est essentiellement développée aux USA avec les travaux de LV Wang pour la microscopie PA (Wang et al., 2003) et de AA Oraevsky pour



la mammographie (Oraevsky et al., 2007). En Europe, les publications dans ce domaine, à l'exception du groupe de Steenbergen et van Leeuwen de l'université de Twente (Pays Bas) depuis 1999, sont très récentes : citons les travaux de l'équipe Physique des Ondes pour la Médecine et la Biologie - Inserm U979 (POM) de l'Institut Langevin (Paris), dirigée par M. Tanter, avec en particulier les travaux de (Bossy et al., 2006) et de (Funke et al., 2009) pour l'application au guidage de la focalisation des HIFU (High Intensity Focalised Ultrasound) pour le traitement des tumeurs, et ceux de D. Razansky et V. Ntziachristos (IBMI, Allemagne) pour l'imagerie moléculaire du petit animal (Ma et al., 2009; Razansky et al., 2007). Les résultats obtenus par les équipes leaders du domaine (L. Wang, D. Razansky) se rapportent essentiellement à l'examen in vivo de tissus de faible épaisseur (œil, drosophile, souris). Des résultats ont également été obtenus sur des fantômes épais mais avec des inclusions présentant de très forts contrastes (Bossy et al., 2006; Funke et al., 2009). L'examen de structures profondes par TPA n'est donc pas exactement immédiat, ceci passe par une meilleure compréhension de l'interaction entre ondes optiques et ultrasonores, en évaluant en particulier l'influence de la forme du signal d'excitation optique et l'aspect quantitatif par l'évaluation des propriétés optiques d'absorption et de diffusion, mais également des propriétés ultrasonores.

Pour appréhender la quantification, jusque très récemment, la plupart des travaux rapportés dans la littérature portaient sur l'utilisation couplée avec de la DOT, pour déterminer la distribution spatiale de la pression initiale (Yin et al., 2007; Yuan et al., 2007). Ce mode opératoire n'exploite donc pas pleinement les potentialités de la technique TPA, qui théoriquement, utilisée seule permet d'avoir à la fois les informations issues de la propagation acoustique et celles de la propagation optique. Dès 2005, (Ripoll and Ntziachristos, 2005), chercheurs spécialistes de la FDOT, montrent l'intérêt d'utiliser des sources optiques ponctuelles pour la résolution du problème inverse pour la reconstruction du coefficient d'absorption seul. (Bal and Uhlmann, 2010), démontrent mathématiquement que, si le coefficient de diffusion est connu aux frontières du domaine, alors les coefficients d'absorption et de diffusion peuvent être déterminés de manière unique par deux mesures réalisées avec deux sources d'illumination aux frontières du domaine. Puis, (Shao et al., 2011; Zemp, 2010) mettent en œuvre une procédure basée sur l'utilisation de sources d'illumination ponctuelles et montrent sur données simulées la possibilité de reconstruire quantitativement les propriétés optiques (absorption et diffusion) et/ou ultrasonore, avec cependant aucune procédure de validation de l'approche. En adoptant les démarches proposées, nous nous proposons donc, dans un premier temps, de vérifier ces théories expérimentalement.

Pour ce qui concerne l'application au sein, deux grandes équipes travaillent sur ce type de projet depuis de nombreuses années : le mammoscope de l'Université de Twente en géométrie plane avec sein compressé (Manohar et al., 2007, 2005, 2004), et le LOIS (Laser induced Optoacoustic Imaging System) de Ermilov et Oraevsky de Fairway Medical Technologies, Inc. (Ermilov et al., 2009), avec de nombreuses publications de travaux préliminaires dans *Proc. of SPIE* depuis 1994 (Oraevsky et al., 1994, 1996) possède une géométrie plus adaptée à la morphologie du sein. Le Tableau 8 montre les caractéristiques de ces deux instruments.

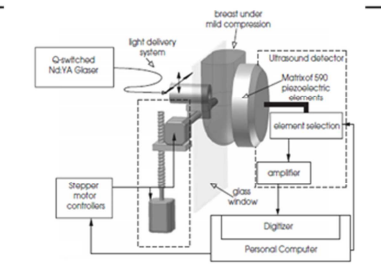
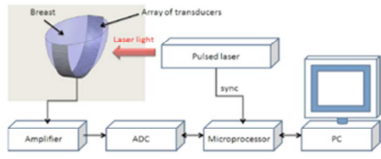
System	Light source	Detector	Reconstruction method	System Outlook
Twente	Q-switched Nd:YAG laser Pulse duration: 5 ns Source energy: 20 mJ/cm <sup>2</sup> with illumination area of 55x55 mm Wavelength: 1064 nm	Two-dimensional ultrasound PVDF detector array	Delay-and-sum beamforming algorithm	
LOIS	Q-switched Alexandrite laser Pulse duration: 75 ns Source energy: 750 mJ/pulse, 10 mJ/cm <sup>2</sup> Wavelength: 757 nm	Hemicylindrical cup with the radius of 70 mm and width of 90 mm	back-projection algorithm	

Tableau 8 : Principales caractéristiques des deux systèmes PAT pour l'examen du sein.

Outre les géométries différentes, les deux systèmes fonctionnent à des longueurs d'onde différentes : le mammoscope de Twente fonctionne à 1064 nm, longueur d'onde intéressante en ce qui concerne la profondeur de pénétration dans les tissus (forte absorption mais diffusion plus faible, Figure 79) mais pas forcément s'il s'agit d'imager la vascularisation des tissus pour une détection de l'angiogenèse puisque l'hémoglobine n'est plus absorbante dans cette zone du spectre. Le LOIS semble plus adapté pour cette application.

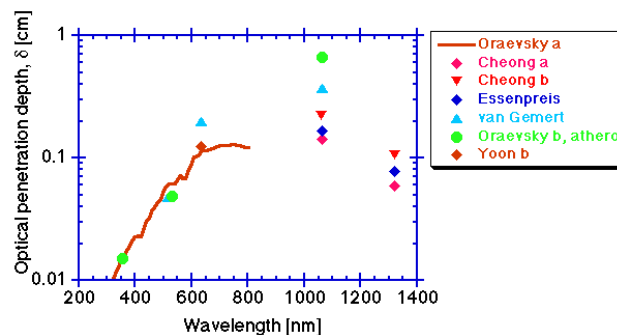


Figure 79 : Profondeur de pénétration optique  $\delta = 1/\sqrt{3\mu_a(\mu_a + \mu_s')}$ , distance à laquelle la fluence aura diminué d'un facteur  $1/e$  soit 37% de sa valeur initiale (source : <http://omlc.ogi.edu/spectra/aorta/index.html>).

Des campagnes d'essais cliniques ont été réalisées récemment (Figure 80). Les résultats sont comparés aux images obtenues par d'autres modalités d'imagerie (ultrasons, mammographie par rayons X, IRM). (Heijblom et al., 2012) concluent notamment que les lésions cancéreuses sont visibles avec un meilleur contraste en photoacoustique qu'en rayons X, tandis que les kystes ne sont pas visibles en photoacoustique. Ces systèmes utilisent une illumination large qui permet d'irradier au mieux la tumeur sous tous les angles, mais ne permet pas de remonter à des cartes de propriétés physiques. Ainsi l'examen du sein par TPA est réalisable, avec des doses d'illumination contrôlées et acceptables. Nous démarrons donc ce projet avec des résultats très prometteurs déjà publiés. Notre objectif est d'améliorer la technique en y incorporant les méthodes permettant d'accéder à la quantification des paramètres physiques

(optiques et acoustiques dans la mesure du possible) et de travailler sur la méthodologie de mesures pour accéder au maximum d'information.

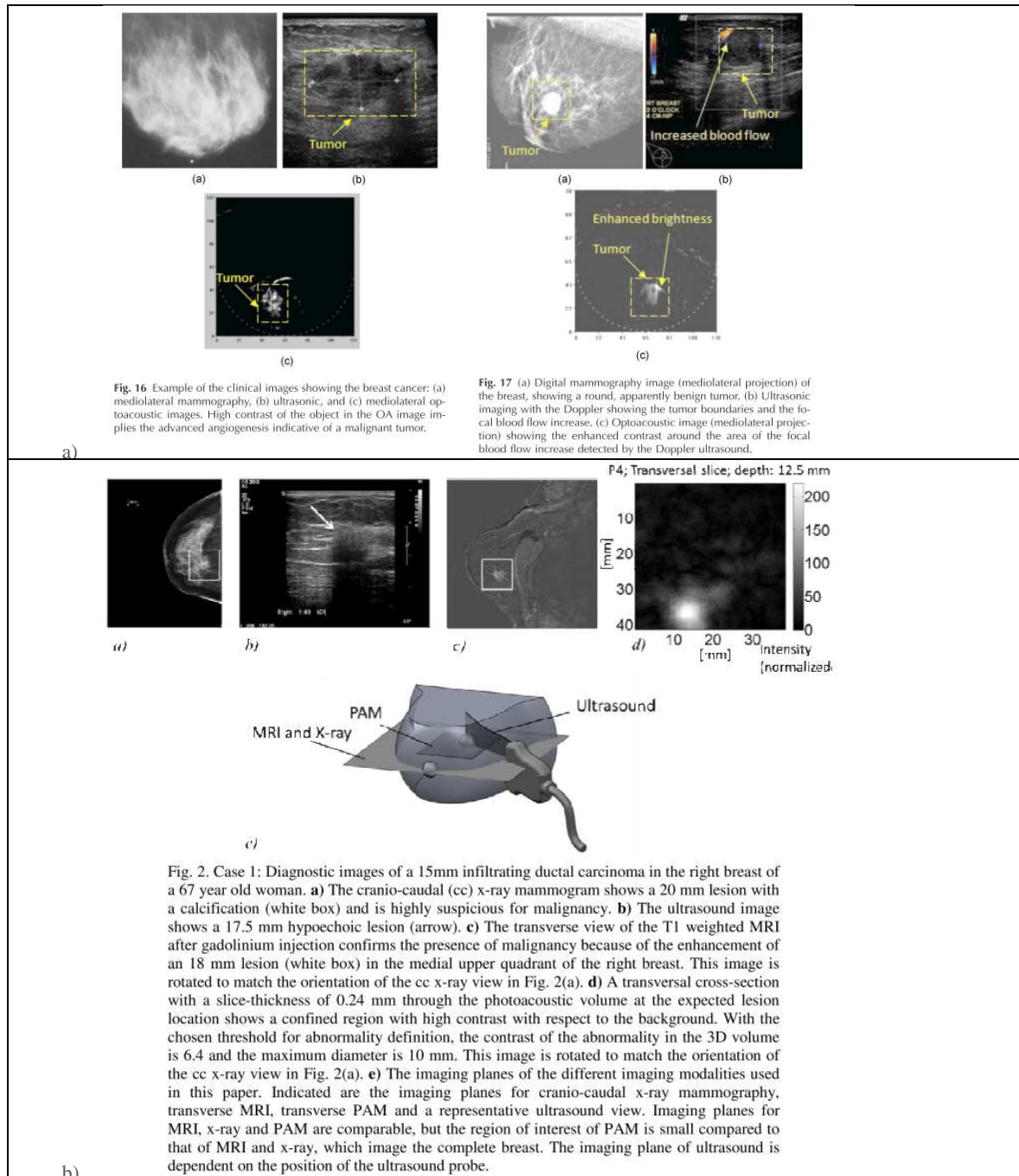


Figure 80 : Mammographie PhotoAcoustique : Résultats extraits des publications a) (Ermilov et al., 2009) et b)(Heijblom et al., 2012)

## II. IMAGERIE PHOTOACOUSTIQUE : FORMALISME

La spectroscopie opto-acoustique ou photoacoustique (PA) est basée sur l'absorption de la lumière, produisant localement un échauffement du milieu. L'expansion locale de l'élément de volume qui s'en suit génère une onde de pression acoustique proportionnelle à l'énergie absorbée, détectable par voie acoustique à l'aide de microphones, piézo-transducteurs ou autres détecteurs de pression. Ainsi, la spectroscopie PA est une forme spécifique de spectroscopie d'absorption qui, contrairement aux mesures spectrophotométriques conventionnelles, mesure

l'énergie réellement déposée. Le signal mesuré est de plus proportionnel à l'énergie d'excitation. L'analyse temporelle des signaux PA donne une information sur la distribution des absorbeurs.

## RESOLUTION DU PROBLEME DIRECT

La Figure 81 présente un schéma de principe du phénomène avec les différents paramètres physiques intervenant dans la description.

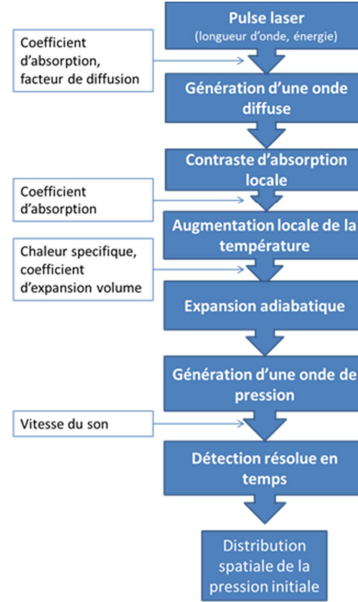


Figure 81 : Schéma descriptif de l'imagerie photoacoustique.

L'instrumentation de base comprend une source lumineuse variable dans le temps, en générale un laser pulsé. La largeur temporelle du pulse  $\tau$  est choisie suffisamment courte pour que la diffusion thermique soit négligée : c'est la condition de confinement thermique (Xu and Wang 2006, Wang 2008) :

$$\tau < \tau_{th} = \frac{d_c^2}{4D_T}$$

$\tau_{th}$  est le seuil de confinement thermique,  $d_c$  est une dimension caractéristique (résolution spatiale de la cible par exemple) et  $D_T$  est le coefficient de diffusivité thermique ( $\sim 0.14 \text{ mm}^2 \text{ s}^{-1}$  pour les tissus Duck (1990)). Ainsi, si l'on cherche une résolution spatiale de  $50 \text{ }\mu\text{m}$ , on aura  $\tau_{th} \approx 4.5 \text{ ms}$ . Les sources typiquement utilisées en TPA ont une largeur de pulse  $\tau \sim 10 \text{ ns}$ . Dans ces conditions, la pression PA générée dans un milieu acoustiquement homogène et non visqueux est décrite par l'équation de Morse et Uno Ingard(1986), Diebold et al (1991) :

$$\nabla^2 p(\mathbf{r}, t) - \frac{1}{v_s^2} \frac{\partial^2 p(\mathbf{r}, t)}{\partial t^2} = -\frac{\beta}{C_p} \frac{\partial}{\partial t} H(\mathbf{r}, t)$$

$H(\mathbf{r}, t)$  est l'énergie EM, convertie en énergie thermique, déposée à la position  $\mathbf{r}$  et au temps  $t$ , par unité de volume et de temps,  $C_p$  est la chaleur spécifique isobare en  $\text{J (K kg)}^{-1}$ ,  $\beta$  est le coefficient d'expansion de volume en  $\text{K}^{-1}$  et  $v_s$  est la vitesse acoustique ( $v_s^2 = 1/\rho\kappa_s$  où  $\kappa_s$  est la compressibilité adiabatique en  $\text{Pa}^{-1}$ ).

La quantité d'énergie déposée dans le tissu et dissipée thermiquement est proportionnelle à l'amplitude de la radiation. Pour l'excitation optique, on a une expression explicite :

$$H(\mathbf{r}, t) = \mu_a(\mathbf{r})\Phi(\mathbf{r}, t)$$

où,  $\mu_a$  est le coefficient d'absorption ( $\text{cm}^{-1}$ ) et  $\Phi(\mathbf{r}, t)$  la fluence ( $\text{W.cm}^{-2}$ ).

En pratique, le problème physique se traduit mathématiquement sous la forme d'un système d'équations aux dérivées partielles (EDP) faiblement couplées :

$$\begin{cases} -\nabla D(\mathbf{r}) \nabla \Phi(\mathbf{r}, t) + \left[ \frac{1}{c} \frac{\partial}{\partial t} + \mu_a(\mathbf{r}) \right] \Phi(\mathbf{r}, t) = q_0(\mathbf{r}, t) \\ \nabla^2 p(\mathbf{r}, t) - \frac{1}{v_s^2} \frac{\partial^2}{\partial t^2} p(\mathbf{r}, t) = -\frac{\beta \mu_a(\mathbf{r})}{C_p} \frac{\partial}{\partial t} \Phi(\mathbf{r}, t) \end{cases}$$

Compte-tenu de la très courte durée d'impulsion des lasers utilisés, la diffusion thermique peut être négligée (cf. ci-dessus), mais on peut également considérer que l'expansion volumique de l'absorbeur pendant l'illumination est négligeable :

$$\tau < \tau_{st} = \frac{d_c}{v_s} < \tau_{th} = \frac{d_c^2}{4D_T}$$

Dans ces conditions, on peut supposer que l'excitation optique est instantanée du point de vue de la propagation acoustique :

$$H(\mathbf{r}, t) \approx A(\mathbf{r})\delta(t)$$

Dans ces conditions, on peut exprimer la distribution de pression initiale  $p_0(\mathbf{r}) = p(\mathbf{r}, t = 0)$  comme :

$$p_0(\mathbf{r}) = \frac{\beta v_s^2}{C_p} A(\mathbf{r}) = \Gamma A(\mathbf{r})$$

$A(\mathbf{r})$  est la densité d'énergie absorbée transformée en chaleur à la position  $\mathbf{r}$  et  $\Gamma$  est le paramètre de Grueneisen (sans dimension).

**Etape1** : calcul de la quantité d'énergie déposée par un pulse :

$$H(\mathbf{r}, t) = \mu_a(\mathbf{r})\Phi(\mathbf{r}, t)$$

Il s'agit donc de résoudre l'équation de propagation du pulse dans le milieu pour déterminer la distribution de la fluence à l'instant  $t$ . Pour simplifier, comme expliqué plus haut, on peut faire l'hypothèse :

$$H(\mathbf{r}, t) = \mu_a(\mathbf{r})\Phi(\mathbf{r}, t) \approx \mu_a(\mathbf{r})\Phi(\mathbf{r})\delta(t)$$

Selon les propriétés de diffusion du milieu, on peut trouver plusieurs cas de figure :

- Non diffusant, régime ballistique :  $\Phi(\mathbf{r}) = \Phi(\mathbf{r}_s)\exp(-\int_0^{|\mathbf{r}-\mathbf{r}_s|} \mu_a(l) dl)$  , c'est simplement la loi de Beer-Lambert (cf. Rayons X) ;
- Dans le cas général, où le milieu est également diffusant, avec un coefficient de diffusion  $\mu_s(\mathbf{r})$ , la propagation lumineuse est régie par l'équation de transfert radiatif (ETR) qui s'écrit pour la luminance  $L_v(\mathbf{r}, \mathbf{u})$ , puissance détectée dans un angle solide de direction donnée  $\mathbf{u}$ , divisée par l'aire apparente de cette source dans cette même direction:

$$\mathbf{u} \cdot \nabla L_v(\mathbf{r}, \mathbf{u}) + (\mu_a + \mu_s)L_v(\mathbf{r}, \mathbf{u}) = \frac{\mu_s}{4\pi} \int_{4\pi} p h_v(\mathbf{r}, \mathbf{u}', \mathbf{u}) L_v(\mathbf{r}, \mathbf{u}') d\Omega' + Q(\mathbf{r}, \mathbf{u})$$

$Q(\mathbf{r}, \mathbf{u})$  est une source qui éventuellement se trouve sur l'élément de volume considéré (par exemple aux interfaces),  $p h_v$  est la fonction de phase et rend compte du diagramme de rayonnement des diffuseurs, c'est une quantité liée à la nature des diffuseurs (tailles des particules, indice de réfraction...). Voir Chapitre 1 pour les définitions. Et on en déduit la fluence :  $\Phi(\mathbf{r}) = \int_{4\pi} L_v(\mathbf{r}, \mathbf{u}') d\Omega'$ .

- Si le milieu est très fortement diffusant et relativement épais, comme ici pour l'examen du sein, on peut utiliser la forme approchée de l'ETR, soit l'équation de diffusion suivante :

$$-\nabla D(\mathbf{r}) \nabla \Phi(\mathbf{r}) + \mu_a(\mathbf{r}) \Phi(\mathbf{r}) = q_0(\mathbf{r})$$

où  $D(\mathbf{r})$  est la constante de diffusion,  $D(\mathbf{r}) = \frac{1}{3(\mu_a(\mathbf{r}) + \mu'_s(\mathbf{r}))}$ . Comme nous l'avons vu au Chapitre 1, selon la géométrie du milieu et son homogénéité, cette équation a des solutions analytiques (milieu homogène infini, semi-infini, slab...) ou peut être résolue par des méthodes numériques. Nous utilisons la méthode des éléments finis (MEF), très générale, largement utilisée, avec des codes en libre accès (NIRFAST, freeFEM), commerciaux (COMSOL®) ou développés à l'Institut Fresnel (Cmielewski et al., 2007; Voznyuk et al., 2013).

## Etape2 : Calcul de la propagation acoustique.

Là aussi, les propriétés acoustiques des tissus biologiques sont assez variables (Figure 82), d'où la volonté d'aller vers une imagerie quantitative susceptible de donner également des informations sur les paramètres acoustiques. Pour les tissus mous à température ambiante,  $\beta \sim 4 \times 10^{-4} \text{K}^{-1}$ ,  $C_p \sim 4 \times 10^3 \text{JkgK}^{-1}$  et  $v_s \sim 1.5 \times 10^3 \text{ms}^{-1}$ , ainsi  $\Gamma \sim 0.25$ .

$$1 \text{ rayl} = 1 \text{ kg m}^{-2} \text{ s}^{-1}$$

TAB. 2.1 – Valeurs des différentes propriétés acoustiques des tissus

Milieu	Célérité moyenne (m/s)	Impédance moyenne (MRayl)	Ecart type (%)	Longueur de corrélation (mm)
Eau	1500	1.5	-	-
Peau	1590 <sup>a,b</sup>	1.733 <sup>a,b,c</sup>	2	0.21
Tissu conjonctif	1545 <sup>a,b</sup>	1.73 <sup>a,b,c</sup>	2	0.21
Graisse	1470 <sup>a,c</sup>	1.396 <sup>a,c,e</sup>	Bernoulli Gaussian	
Lobe	1550 <sup>a,c</sup>	1.643 <sup>a,c,e</sup>	2	0.21
Muscle	1545 <sup>a,c</sup>	1.622 <sup>a,c,e</sup>	0.8	0.42
Ectasie	1570-1620 <sup>d</sup>	1.632-1.684 <sup>d,e</sup>	2	0.03 <sup>f</sup>

avec <sup>a</sup> Goss et al 1978, <sup>b</sup> Foster et al 1984, <sup>c</sup> Kossoff et al 1973, <sup>d</sup> Glover 1979, <sup>e</sup> Woodward & White 1986, <sup>f</sup> Oelze & O'Brien 2004.

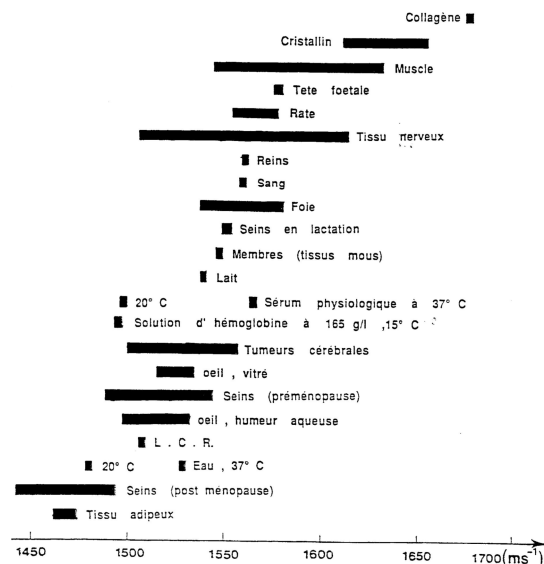
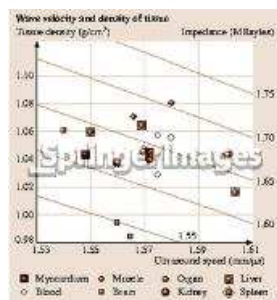


TABLE 45-1. ACOUSTIC PROPERTIES OF TISSUES AND OTHER MATERIALS OF IMPORTANCE IN CLINICAL ULTRASOUND

Material	Speed of Sound, c (m/s)	Acoustic Impedance, Z = ρc (10 <sup>3</sup> kg/m <sup>2</sup> -s)	Attenuation Coefficient at 1 MHz (dB/cm)
Blood	1575 ± 11	1.62 ± 0.02	0.15 ± 0.04
Bone	3183 ± 618	4.8 ± 0.99	14.2 - 25.2
Brain	1565 ± 10	1.54 ± 0.05	0.75 ± 0.17
Breast	1430 - 1570		0.3 - 0.6
Fat	(1450)	[1.38]	(0.63)
peritoneal	1480		2.1
subcutaneous	1478 ± 9		0.6
Heart	1571 ± 19	1.64	2.0 ± 0.4
Liver	1604 ± 14	1.63 - 1.75	1.2
Lung			[40]
Muscle		(1.70)	
Perpendicular	1581 ± 8		0.96 ± 0.35
Parallel	1581 ± 19		1.4
Soft tissue (mean)	[1540]	[1.63]	[1]
Air	[331]	[0.0004]	(12)
Castor oil	(1500)	(1.4)	(0.95)
PZT*	(4000)	(30)	
Water	[1498]	[1.50]	(0.0022)

\*Lead zirconate titanate.

Figure 82 : exemples de propriétés acoustiques issues de la littérature.

Pour modéliser la propagation de l'onde acoustique, nous avons testé deux approches, la méthode des éléments finis et une méthode semi-analytique basée sur une formulation analytique dans l'espace de Fourier (méthode dite « k-space » (Cox et al., 2007)). La Figure 83 présente les deux approches ainsi qu'un exemple de résultats obtenus dans les mêmes conditions.

La distribution spatiale de la fluence  $\Phi(\mathbf{r})$  est calculée par MEF dans les deux cas :

- *Propagation acoustique calculée par MEF* : cette distribution fluence est introduite comme pondération du terme source de l'équation de propagation:  $\nabla^2 p(\mathbf{r}, t) - \frac{1}{v_s^2} \frac{\partial^2}{\partial t^2} p(\mathbf{r}, t) = -\frac{\beta \mu_a(\mathbf{r}) \Phi(\mathbf{r})}{c_p} \frac{\partial \delta(t)}{\partial t}$ . La difficulté en MEF est la définition de la dérivée temporelle de la distribution de Dirac  $\frac{\partial \delta(t)}{\partial t}$ . La stabilité et la précision des résultats dépendent fortement de la finesse du maillage, ce qui conduit à des temps de calculs qui peuvent devenir rapidement impraticables.
- *Propagation acoustique calculée par la méthode k-space* : elle s'avère beaucoup plus stable tout en utilisant un maillage régulier et plus grossier. La distribution spatiale de la fluence  $\Phi(\mathbf{r})$  est projetée sur un maillage carré régulier et on en déduit la distribution de pression initiale  $p_0(\mathbf{r}) = \frac{\beta v_s^2}{c_p} \mu_a(\mathbf{r}) \Phi(\mathbf{r}) = \Gamma \mu_a(\mathbf{r}) \Phi(\mathbf{r})$ . On peut montrer que, dans les conditions de confinement thermique, i.e. chauffage instantané du milieu, le cas ici compte-tenu du fait que  $v_s \ll c$ , le problème peut s'écrire comme un problème aux valeurs initiales :

$$\begin{cases} \nabla^2 p(\mathbf{r}, t) - \frac{1}{v_s^2} \frac{\partial^2}{\partial t^2} p(\mathbf{r}, t) = 0 \\ p(\mathbf{r}, t = 0) = p_0(\mathbf{r}) = \Gamma \mu_a(\mathbf{r}) \Phi(\mathbf{r}) \\ \frac{\partial}{\partial t} p(\mathbf{r}, t) = 0 \end{cases}$$

Pour lequel la solution est bien connue et s'écrit si les propriétés acoustiques du milieu sont homogènes:

$$p(\mathbf{r}, t) = \frac{\Gamma}{4\pi v_s^2} \frac{\partial}{\partial t} \frac{1}{v_s} \int \mu_a(\mathbf{r}') \Phi(\mathbf{r}') \delta(t - \frac{|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|}{v_s}) d\mathbf{r}'$$

(Cox et al., 2007) montre que cette solution peut se réécrire sous la forme :

$$p(\mathbf{r}, t) = \frac{1}{(2\pi)^3} \int p_0(\mathbf{k}) \cos(v_s k t) e^{i\mathbf{k} \cdot \mathbf{r}} d\mathbf{k} = TF^{-1}[p_0(\mathbf{k}) \cos(v_s k t)]$$

où  $p_0(\mathbf{k})$  est la transformée de Fourier (TF) de  $p_0(\mathbf{r})$ , et  $TF^{-1}$  désigne la transformée de Fourier inverse.

L'utilisation de ce type de méthode suppose que la solution est périodique (mêmes valeurs aux frontières du domaine) ce qui est rarement le cas. Pour s'affranchir de ce problème, on applique classiquement des conditions aux limites totalement absorbantes (PML, Perfectly Matched Layer). Cette méthode présente l'avantage d'être rapide par l'utilisation d'algorithmes FFT pour le calcul des TF tout en nécessitant moins d'éléments de maillage pour l'évaluation des transformées de Fourier. Nous utilisons un code de calcul programmé sous Matlab® que les auteurs mettent en libre accès sous le nom de 'k-wave' (<http://www.k-wave.org/>). L'approche a

été étendue pour traiter également le cas de milieux inhomogènes acoustiquement (Cox et al., 2007).

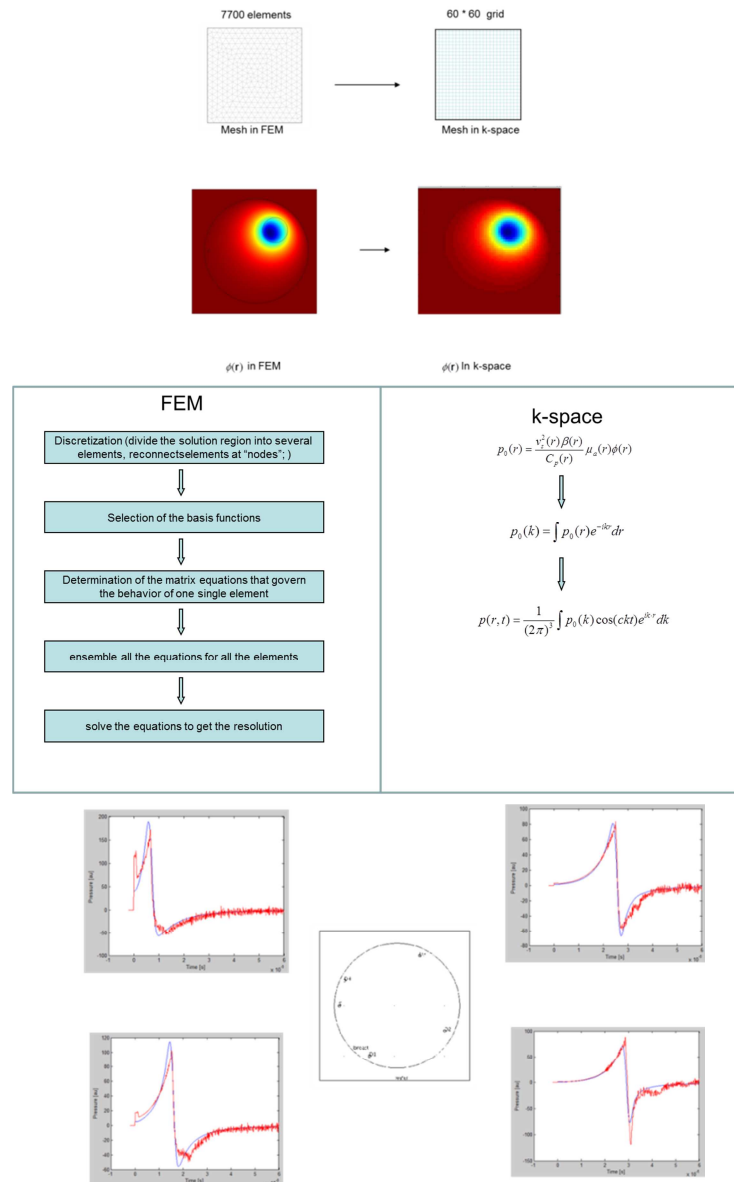


Figure 83 : Comparaison entre l'approche MEF et k-space, Haut : schémas descriptifs des méthodes ; Bas : calculs des pressions acoustiques en différents points par la MEF (rouge) et la méthode k-space (bleu).

**Exemple de simulation en 2D :** Par simplicité, les simulations sont réalisées en 2D, le principe est le même en 3D.

**Géométrie du milieu :** un disque de diamètre 6 cm simulant le sein, avec comme inclusion un disque plus petit, de diamètre 0.6 cm simulant la tumeur situé à la position (+1cm,+1cm), avec les propriétés optiques décrites plus haut. Ce disque baigne dans de l'eau. Pour simuler l'expérience, ce disque est placé dans l'eau : ceci se retrouve dans les conditions aux limites de Robin :  $\nabla\Phi(\mathbf{r}) - 2\alpha D(\mathbf{r})\Phi(\mathbf{r}) = 0$ ,  $\mathbf{r} \in \text{surface}$ ,  $\alpha$  est un coefficient qui rend compte de la réflexion aux interfaces et qui dépend donc du contraste d'indices. Notons que les tissus biologiques ont un indice de réfraction de l'ordre de 1.4, et l'eau de l'ordre 1.33. De ce fait,  $\alpha \approx 1$ .

**Calcul de la fluence :** on considère les propriétés optiques suivantes : coefficient d'absorption :  $\mu_{a\_sein} = 0.04 \text{ cm}^{-1}$ ,  $\mu_{a\_tumeur} = 0.08 \text{ cm}^{-1}$ ; coefficient de diffusion réduit :  $\mu_{s\_sein} = 10 \text{ cm}^{-1} = \mu_{s\_tumeur}$



(pour simplifier, on les a pris égaux, mais c'est aussi un paramètre qui change si le tissu est cancéreux). Pour les coefficients d'absorption et de diffusion, ce sont des ordres de grandeurs, les valeurs peuvent beaucoup varier selon les tissus et selon l'état pathologique. La vitesse de la lumière dans le milieu est  $v = 2.14 \times 10^8 \text{ m.s}^{-1}$ . Un exemple est représenté sur la Figure 84, gauche.

*Calcul de la pression photoacoustique* (Figure 84, droite):

- Cas 0 : propriétés acoustiques et optiques homogènes (le cas de référence **sans** tumeur)

Les propriétés acoustiques sont les suivantes :

- Coefficient d'expansion de volume :  $\beta_{\text{sein}} = \beta_{\text{tumeur}} = \beta_{\text{eau}} = 4 \times 10^{-4} \text{ K}^{-1}$
- Chaleur spécifique:  $C_{p_{\text{eau}}} = C_{p_{\text{sein}}} = C_{p_{\text{tumeur}}} = 4 \times 10^3 \text{ J kg}^{-1} \text{ K}^{-1}$
- Vitesse du son  $v_{s_{\text{eau}}} = v_{s_{\text{sein}}} = v_{s_{\text{tumeur}}} = 1485 \text{ m.s}^{-1}$

On suppose ici que tous les milieux ont la même densité, soit celle de l'eau :  $1500 \text{ kg.m}^{-3}$ . On calcule la carte  $H(r)$ , puis, par la méthode K-space, on résout l'équation de propagation acoustique afin de générer des mesures synthétiques à diverses positions de capteurs (transducteurs) positionnés en périphérie de l'objet.

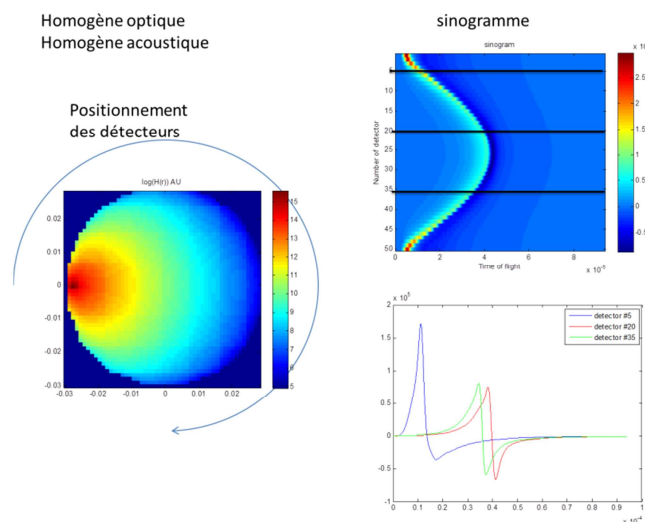


Figure 84 : Exemple de calcul pour une source optique ponctuelle placée en (-2.5 cm, 0 cm). Les résultats sont projetés sur un maillage régulier. 50 transducteurs ponctuels sont placés en périphérie et les mesures calculées sont représentées sous la forme d'un sinogramme (droite, haut), dont sont extraites trois mesures (barres noires) représentées à droite, en bas.

Les positions temporelles des signaux mesurés correspondent globalement à la distance entre la source ponctuelle et le détecteur. Ce signal mesure donc ici globalement la position de la source où la pression initiale est très forte.

Cas 1 : propriétés acoustiques homogènes+hétérogène optique (le cas généralement réalisé dans la littérature) : De la même façon, on obtient :

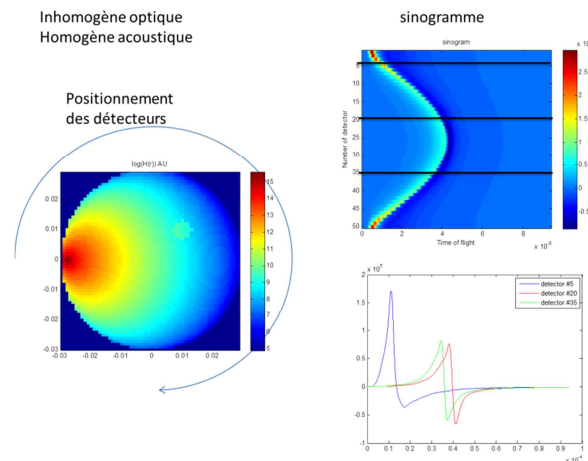


Figure 85 : Même légende Figure 84, pour un milieu de propriétés optiques inhomogènes.

On constate que la présence de l'inhomogénéité modifie peu les signaux mesurés. Ce qui implique de travailler en différentiel : en pratique, on réalise une mesure sur un milieu homogène dont les propriétés optiques/acoustiques sont proches de celle du milieu homogène, puis on effectue la mesure sur l'échantillon et on soustrait les deux pour faire apparaître l'influence de l'inhomogénéité.

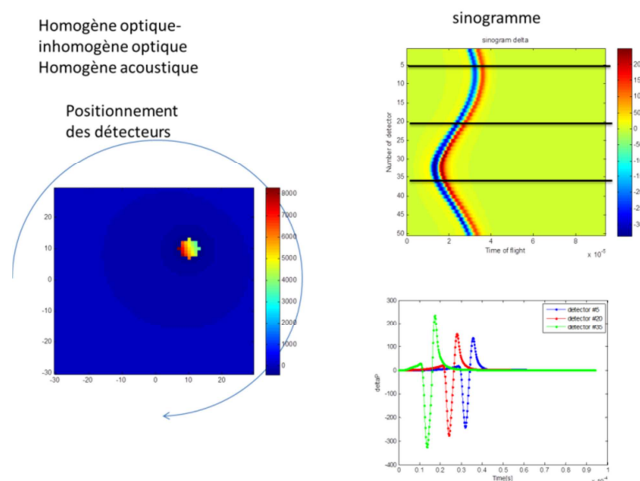


Figure 86 : Même légende Figure 84, mesure différentielle

Pour résumé, la Figure 87 présente un schéma algorithmique du programme implémenté pour le calcul du modèle direct.

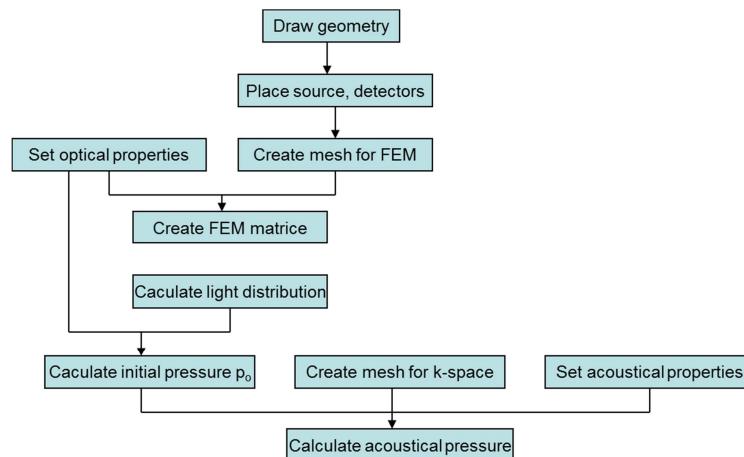


Figure 87 : Schéma algorithmique modèle direct

## RESOLUTION DU PROBLEME INVERSE

Selon l'information à laquelle on souhaite remonter, différentes approches sont possibles. A partir des mesures acoustiques, on peut remonter à la distribution de pression initiale  $p_0(\mathbf{r}) = \Gamma\mu_a(\mathbf{r})\Phi(\mathbf{r})$ . Le problème se ramène donc à un problème de localisation de source passive. Comme on l'a vu, jusqu'en 2010, on remontait au coefficient d'absorption soit, en supposant que la fluence était indépendante ou faiblement dépendante des paramètres optiques, soit en effectuant explicitement une mesure DOT pour reconstruire les cartes d'absorption et de diffusion. Les travaux théoriques de (Bal and Uhlmann, 2010), ont donné la preuve mathématique qu'à partir de mesures photoacoustiques seules, avec l'utilisation de sources multiples, on pouvait remonter aux propriétés optiques d'absorption et de diffusion. La mise en œuvre algorithmique a été réalisée par (Zemp, 2010)(Shao et al., 2011). L'information sur la localisation de la source optique permet ainsi de passer d'un sondage passif (comme en sismologie pour la localisation d'un tremblement de terre) à un sondage actif (comme en océanographie pour le sondage des fonds marins ou en géophysique pour le sondage des sols).

### RECONSTRUCTION DE LA CARTE DE DISTRIBUTION DE PRESSION INITIALE

Plusieurs techniques existent parmi lesquelles la rétropropagation filtrée est la plus répandue, filtered backprojection, dans les cas le permettant, développement en séries utilisant le principe de Huyghens, Méthode du retournement temporel. Le programme ANR AVENTURES doit précisément étudier différentes approches de résolution du problème inverse pour proposer le schéma le mieux adapté. N'étant pas spécialiste du problème acoustique, j'ai pour ma part retenu la méthode du retournement temporel pour cette première étape de reconstruction (Figure 88).

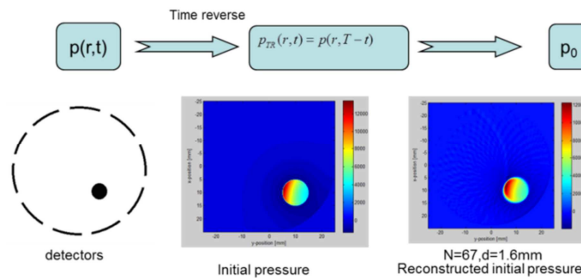


Figure 88 : Haut : schéma décrivant la procédure de reconstruction par retournement temporel des cartes de distributions de pression initial  $p_0$ . Bas : exemples de reconstructions à partir de données simulées avec une source d'illumination ponctuelle placée à gauche, pour un nombre  $N=67$  de détecteurs focalisés de longueur  $d=1.6\text{ mm}$  placés en périphérie de l'objet à imager (tumeur, propriétés physiques comparables à la réalité).

### RECONSTRUCTION DES PROPRIETES PHYSIQUES

A partir des cartes de distribution de pression initiale, il s'agit de découpler les effets de l'absorption et de la diffusion. (Shao et al., 2011) montrent que l'on peut accéder à ces cartes, puis à la carte de distribution du coefficient de Grüneisen représentatif des propriétés acoustiques du milieu (Figure 89), en faisant appel à des mesures multiples effectuées sous *illumination ponctuelle* (la méthode s'appelle MI-PAT pour 'Multiple-Illumination Photoacoustic Tomography').

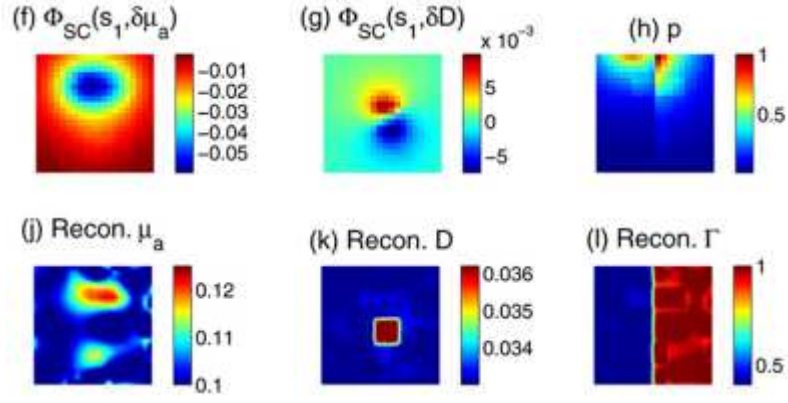


Figure 89 : Figures extraites de (Shao et al., 2011) : à partir du calcul théorique de la fluence pour plusieurs sources ponctuelles  $\Phi_{sc}$  et de la reconstruction de la carte de distribution de pression initiale  $p$ , on obtient les cartes de distribution des propriétés optiques ( $\mu_a$ ,  $D$ ) et acoustique ( $\Gamma$ ).

Le schéma proposé se base donc sur une approche perturbative (approximation de Born) pour la reconstruction des propriétés optiques :

$$\begin{cases} \mu_a(\mathbf{r}) = \mu_a^0 + \delta\mu_a(\mathbf{r}) \\ D(\mathbf{r}) = D^0 + \delta D(\mathbf{r}) \end{cases}$$

Rappelons que, dans l'approximation de Born :

$$\Phi(\mathbf{r}) = \Phi^0(\mathbf{r}) + \delta\Phi(\mathbf{r})$$

$$\delta\Phi(\mathbf{r}_s, \mathbf{r}_d) = \int \left( -\frac{\delta\mu_a(\mathbf{r})}{D^0} \right) G_0(\mathbf{r}_d, \mathbf{r}) \Phi^0(\mathbf{r}, \mathbf{r}_s) d^3r + \int \left( \frac{\delta D(\mathbf{r})}{D^0} \right) \nabla G_0(\mathbf{r}_d, \mathbf{r}) \cdot \nabla \Phi^0(\mathbf{r}, \mathbf{r}_s) d^3r.$$

qui se réécrit après discrétisation du volume :

$$\delta\Phi(\mathbf{r}_s, \mathbf{r}_d) = \sum_{j=1}^N J_{a,j} \delta\mu_a(\mathbf{r}_j) + J_{D,j} \delta D(\mathbf{r}_j)$$

$$\text{avec } J_{a,j} = \left( -\frac{\Delta V}{D^0} \right) G_0(\mathbf{r}_d, \mathbf{r}_j) \Phi^0(\mathbf{r}_j, \mathbf{r}_s) \text{ et } J_{D,j} = \left( \frac{\Delta V}{D^0} \right) \nabla G_0(\mathbf{r}_d, \mathbf{r}_j) \cdot \nabla \Phi^0(\mathbf{r}_j, \mathbf{r}_s)$$

L'idée se base sur le fait que, quelle que soit la mesure réalisée, les propriétés physiques à reconstruire sont les mêmes, ainsi pour un couple de sources d'illumination  $l$  et  $k$ , on aura :

$$\begin{aligned} \frac{\hat{p}_l(r_j)}{\hat{p}_k(r_j)} &\cong \frac{\Phi_l(r_j)}{\Phi_k(r_j)} \cong \frac{\Phi_l^0(r_j) + \delta\Phi_l(r_j)}{\Phi_k^0(r_j) + \delta\Phi_k(r_j)} \\ \Rightarrow \sum_n [\hat{p}_l(r_j) \mathbf{W}_{\{lj\}n} - \hat{p}_k(r_j) \mathbf{W}_{\{kj\}n}] \mathbf{u}(r_n) &= \hat{p}_l(r_j) \Phi_k^0(r_j) - \hat{p}_k(r_j) \Phi_l^0(r_j) \end{aligned}$$

où  $\hat{p}_\alpha$  est la carte de distribution de pression initiale reconstruite à partir de la mesure réalisée avec la source  $\alpha = l$  ou  $k$ , et  $\mathbf{W} = [J_a | J_D]$  et  $\mathbf{u} = [\delta\mu_a^T | \delta D^T]$ , ramenant ainsi le problème à un problème d'inversion linéaire de type  $\mathbf{Q}\mathbf{u} = \mathbf{b}$ . Le problème se réduit à un problème d'inversion de matrice.

En pratique, on effectue les opérations suivantes :

Pour chaque couple de sources  $l, k$ :

- Calculs des matrices  $\mathbf{W}_{\{lj\}n}$  et  $\mathbf{W}_{\{kj\}n}$
- Reconstructions de  $\hat{p}_l$  et  $\hat{p}_k$
- Construction des matrices  $\mathbf{Q}$  et  $\mathbf{b}$
- Inversion de  $\mathbf{Q}$
- A partir des cartes  $\delta\mu_a$  et  $\delta D$ , on en déduit la carte  $\hat{\Gamma}(\mathbf{r}) = \frac{\sum_i \hat{p}_i(\mathbf{r})}{\hat{\mu}_a(\mathbf{r}) \sum_i \hat{\Phi}_i(\mathbf{r})}$

La difficulté ici est de calculer les matrices  $J_a$  et  $J_D$  chacune de dimension  $SJ \times N$ , où  $S$  est le nombre de sources,  $J$  est le nombre de voxels du maillage de reconstruction où sont connus les valeurs de  $\hat{p}_\alpha$  et  $N$  le nombre de voxels du maillage de reconstruction des inconnues optiques

(qui éventuellement peut être différent du maillage de  $\hat{p}_\alpha$ ), ce qui conduit à des temps de calculs qui peuvent être longs et une consommation de mémoire conséquente.

Notons que (Shao et al., 2011) font la démonstration sur une situation simplifiée, un milieu infini, qui leur permet d'utiliser des formules analytiques pour les fonctions de Green, ce qui ne limite pas la démarche. Si le milieu est de taille finie, il convient d'effectuer les calculs optiques pour la géométrie considérée. Par ailleurs, l'utilisation de sources ponctuelles permet d'accéder au découplage des cartes. Ce n'est pas tant le fait que la source soit ponctuelle que le fait que les mesures sont réalisées en de multiples endroits autour de l'objet. Comme pour la DOT, on peut donc optimiser la géométrie d'éclairage pour accéder à des reconstructions qui restent de bonne qualité, sachant qu'expérimentalement il est toujours souhaitable, avec un laser impulsif, de distribuer l'énergie sur une surface plus grande pour limiter les risques de brûlure. Nous nous proposons donc d'adapter les résultats théoriques en matière de quantification à la mammographie.

### III. ETUDE SUR L'OPTIMISATION DE LA GEOMETRIE D'ACQUISITION DES DONNEES EXPERIMENTALES

Cette étude est menée dans le cadre de la thèse de Ningning Song (soutenance prévue en septembre 2014). L'idée est de chercher la meilleure distribution de sources optiques et de détecteurs (transducteurs) acoustiques tout en minimisant le nombre de mesures. Ces études sont pour le moment incomplètes, mais la démarche est décrite.

#### OPTIMISATION DE LA DISTRIBUTION DES TRANSDUCTEURS

Nous nous focalisons ici sur le nombre de mesures optimal à réaliser afin d'obtenir une bonne reconstruction de la distribution de pression initiale, dans deux configurations géométriques en 2D. Nous n'étudions pour le moment que le cas de transducteurs focalisés, ceux dont on dispose expérimentalement.

#### INFLUENCE DE LA DISTRIBUTION DES TRANSDUCTEURS

---

On considère un disque de diamètre 4,5 cm contenant 5 inclusions absorbantes ponctuelles (positions : 0 ; +8mm ; +16 mm ; +24 mm ; +32 mm par rapport au centre) générant chacune une distribution de pression initiale d'amplitude 1. Les transducteurs sont distribués en périphérie et sont focalisés au centre. L'objectif étant de reconstruire ces objets ponctuels avec la même amplitude quelle que soit leur position dans le milieu, nous adoptons ici la démarche préconisée par (Allen and Beard, 2012), dans un but de validation.

Deux types de configuration de mesures sont réalisées (Figure 90):

- Distribution "dense": la longueur totale de l'ensemble des détecteurs est le périmètre du disque, pour une couverture angulaire totale des objets, et on fait varier le nombre et la longueur des détecteurs.

- Distribution "espacée": le nombre de détecteurs reste constant mais leur taille varie, la couverture angulaire n'est pas complète.

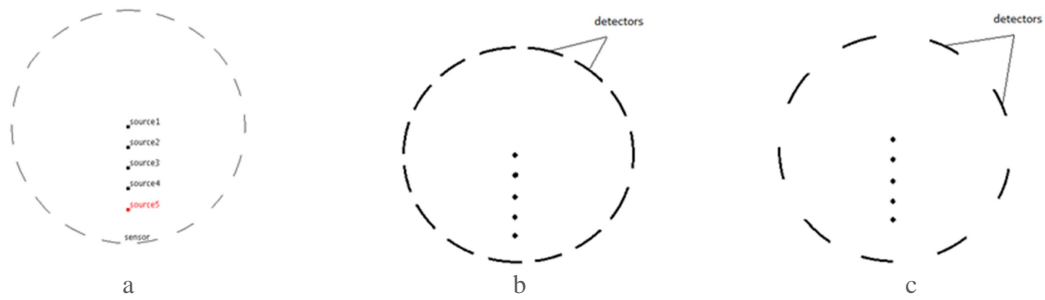


Figure 90 : a) géométrie ; b) Distribution "dense" ; c) Distribution "espacée"

Le signal mesuré est modélisé en résolvant l'équation de propagation transformée de Fourier, en considérant un maillage (1024\*1024) (taille d'un pixel : 100 $\mu$ m\*100  $\mu$ m). Le signal mesuré en chaque pixel constituant un élément du détecteur est remplacé par la valeur moyenne calculée sur la longueur du détecteur afin de simuler un détecteur focalisé avec une certaine extension spatiale. La résolution du problème inverse se fait ensuite par retournement temporel.

La Figure 91 illustre l'effet produit par l'élargissement de la taille des détecteurs sur l'amplitude reconstruite de chacune des sources.

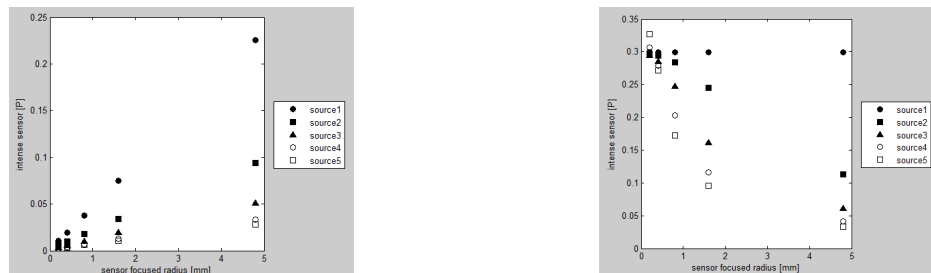


Figure 91 : Valeurs reconstruites pour chacune des sources en fonction de la taille du détecteur pour la Distribution "espacée" (gauche) et la Distribution "dense" (droite).

Pour la Distribution "espacée", l'amplitude reconstruite augmente mais de manière non-uniforme pour chacune des sources. Cette configuration n'est donc pas très bonne puisque la valeur que l'on reconstruit dépend de la position dans le milieu. En revanche, pour la Distribution "dense", une longueur de détecteur optimum existe pour laquelle, bien que la valeur absolue ne soit pas exactement égale à 1, quelle que soit la position dans le volume, l'amplitude reconstruite est la même. Concrètement, pour la géométrie examinée, cette valeur est très petite (0.3mm), ce qui suppose un grand nombre de mesures. Ceci illustre déjà la difficulté du problème quant au choix du détecteur.

#### INFLUENCE DE LA DISTRIBUTION DES TRANSDUCTEURS SUR LA QUALITE DES IMAGES RECONSTRUITES

La deuxième configuration comprend un objet unique, positionné au centre (situation la plus favorable), de taille variable. Le diamètre du disque est plus petit que précédemment avec un maillage de 512\*512 pixels (même taille de pixel que précédemment). Le rayon de l'objet (tumeur) varie (0.5mm, 1.5mm, 2.5mm, 5mm, et 7.5mm).

On considère 22 détecteurs pour la Distribution "espacée", avec des longueurs variables (0.8mm, 1.6mm, 2.4mm, 3mm, 5mm, et 6mm). Un exemple de reconstruction est donné sur la Figure 92 pour des détecteurs de longueur 0.8 mm et une tumeur de rayon 0.5 mm.

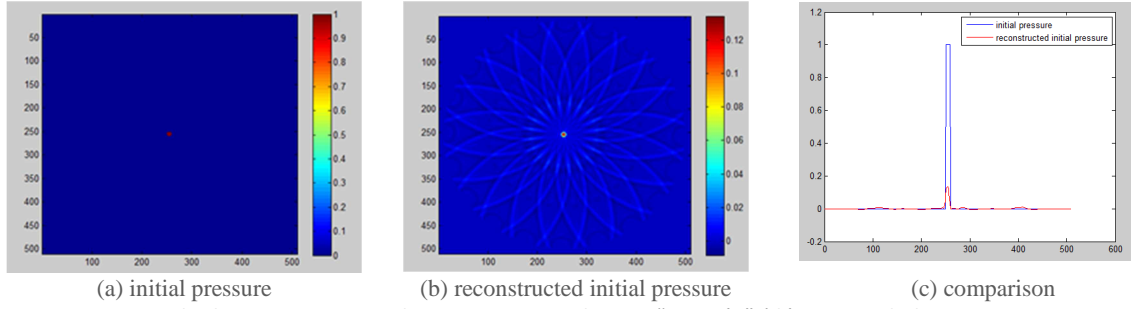


Figure 92 : Exemple de reconstruction obtenue avec Distribution “espacée” (détecteurs de longueur 0.8 mm et une tumeur de rayon 0.5 mm).

Pour la Distribution “dense”, la longueur des détecteurs est 0.8mm, 1.6mm, 2.4mm, 3mm, 5mm, 10mm, et 22mm. Un exemple de reconstruction est donné sur la Figure 93 pour des détecteurs de longueur 0.8 mm et une tumeur de rayon 7.5 mm.

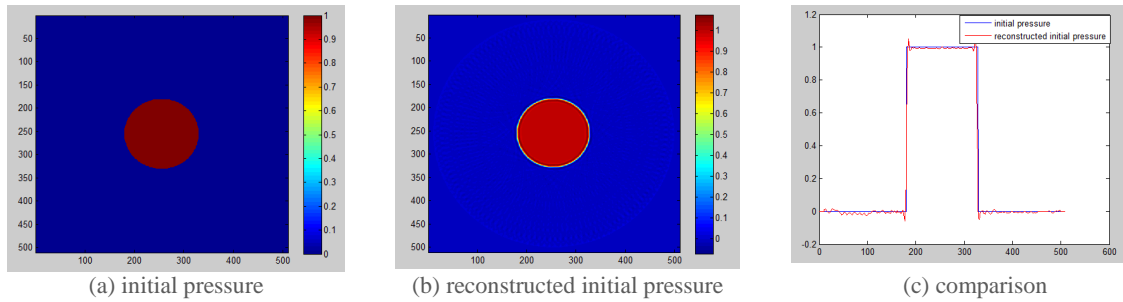


Figure 93 : Exemple de reconstruction obtenue avec Distribution “dense” (détecteurs de longueur 0.8 mm et une tumeur de rayon 7.5 mm).

La Figure 94 représente l’erreur quadratique sur les résultats de reconstruction dans les deux cas.

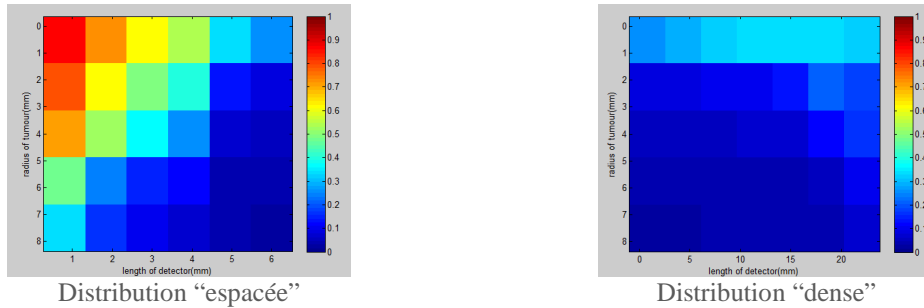


Figure 94 : Erreur quadratique  $\sum_i \sum_j (P_{simulation(ij)} - P_{reconstruction(ij)})^2 / \sum_i \sum_j P_{simulation(ij)}^2$  entre reconstructions et simulations en fonction de la taille de la tumeur et de la longueur des détecteurs élémentaires dans les deux configurations.

Elle montre bien entendu que pour le cas de la Distribution “dense”, la qualité reste bonne même pour des détecteurs de grande taille. C’est indéniablement la configuration à laquelle il faudra se ramener dans la mesure du possible. Elle montre cependant que, pour la Distribution “espacée”, la qualité de la reconstruction devient acceptable si le détecteur a une grande taille (la couverture angulaire est meilleure), ce qui va dans le sens de la Distribution “dense”.

En conclusion, l’important pour l’obtention de bons résultats sera d’examiner l’objet sous une couverture angulaire pleine. L’idée est à présent de vérifier si ces conclusions sont valables en 3D (Figure 95).

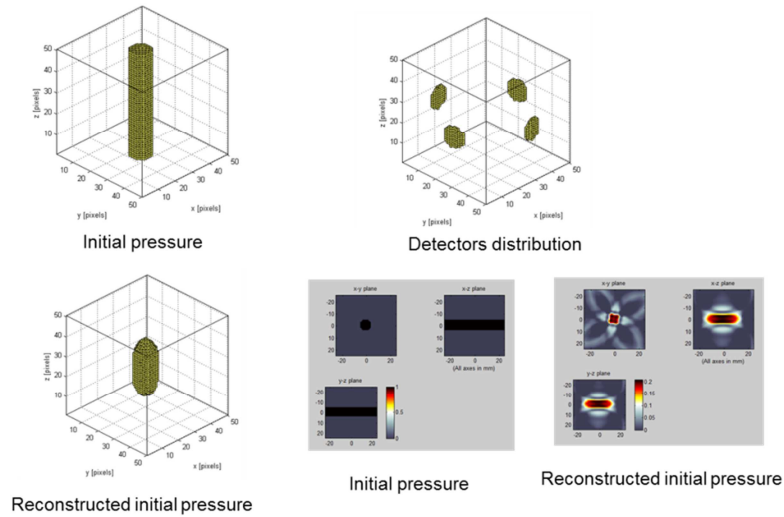


Figure 95 : Exemple de simulation en 3D.

## OPTIMISATION DE LA DISTRIBUTION DES SOURCES

Une fois définie la distribution de détecteurs optimale, les questions au sujet de la distribution des sources auxquelles nous cherchons à répondre sont les suivantes :

- ➔ Combien de sources utiliser ?
- ➔ Où les placer ?
- ➔ Source ponctuelle, source étendue ou plusieurs sources ponctuelles/étendues pour une illumination simultanée ?

Nous n'avons pas encore étudié tous ces cas. Toutefois, on comprend bien que si la distribution des sources est répartie de manière homogène autour de l'objet, on aura un signal photoacoustique avec un très bon rapport signal à bruit et donc une bonne reconstruction de la distribution de pression initiale (Figure 96), mais, comme on l'a vu, on aura du mal à obtenir la distribution des propriétés physiques. La géométrie de mesure idéale résultera d'un compromis.

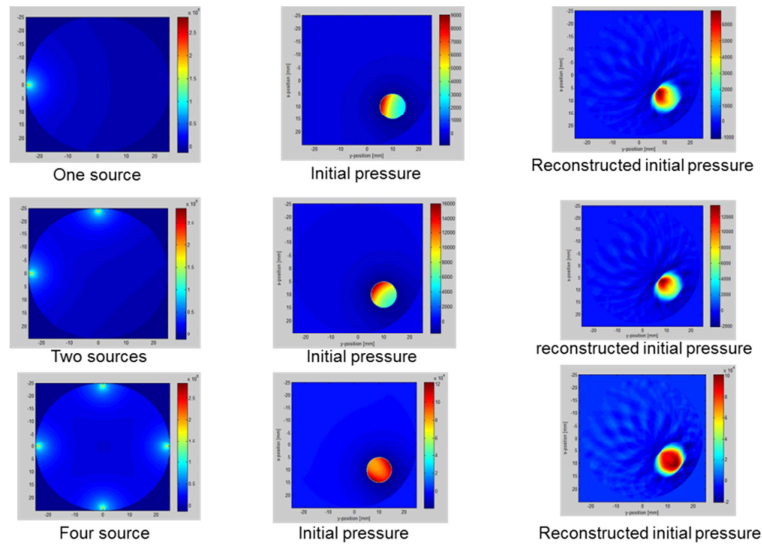


Figure 96 : Colonne 1 : distribution de la fluence pour une, deux et quatre sources d'illumination ; colonne 2 : distribution de pression initiale calculée ; colonne 3 : distribution de pression initiale reconstruite.

## IV. PRISE EN COMPTE DES INHOMOGENEITES ACOUSTIQUES : FAISABILITE D'UN SCANNER OPTO-ECHOGRAPHIQUE



Les techniques d'imagerie photoacoustique actuelles se basent sur la mesure exclusive de la perturbation acoustique générée par l'hétérogénéité optique (tumeur). Cette perturbation locale est détectée au niveau des transducteurs avec un retard représentatif de la distance parcourue par l'onde acoustique, ce qui permet, avec un nombre minimum de mesures, de localiser l'objet.

Nous proposons d'exploiter le fait qu'une tumeur, dans la mesure où elle est visible par voie optique (DOT ou PAT) et par voie ultrasonore (échographie), est hétérogène optiquement mais aussi acoustiquement. Physiquement, est générée au moment de l'illumination du milieu, une onde acoustique due à l'hétérogénéité optique que l'on cherche à détecter, mais également une onde acoustique au niveau de l'impact de la source lumineuse elle-même. Les techniques actuelles font en sorte de ne pas mesurer ce deuxième signal, très fort en terme d'amplitude, en positionnant les détecteurs de manière transverse par rapport à l'illumination (Ermilov et al., 2009) et/ou en limitant leur bande passante pour ne détecter que les signaux d'intérêts. Nous proposons au contraire de mesurer l'ensemble des signaux. En effet, cette onde acoustique se propageant dans le milieu acoustiquement hétérogène est également porteuse d'information sur la structure du milieu. Ainsi, au niveau d'un détecteur placé en périphérie du milieu, on collecte une variation de pression liée à l'hétérogénéité optique avec un retard caractéristique lié à la distance objet (tumeur)-détecteur (principe de mesure photoacoustique), mais également une seconde signature liée à l'hétérogénéité acoustique avec un retard représentatif de la distance source optique-objet-détecteur. Ceci favorise bien évidemment la localisation de l'objet (localisation meilleure et plus rapide), et donc les quantifications issues de la résolution du problème inverse. (Cox et al., 2007) montrent effectivement la nécessité de prendre en compte les hétérogénéités acoustiques du milieu dans la modélisation de la propagation. Par ailleurs, comme on l'a vu, (Shao et al., 2011) ont montré la possibilité de reconstruire les propriétés optiques (absorption et diffusion) et les propriétés acoustiques (coefficient de Grueneisen). Mais à notre connaissance, il n'existe pas de travaux montrant effectivement l'apport de cette double hétérogénéité pour une meilleure localisation de la tumeur.

## PRINCIPE

Dans ce projet, nous proposons un schéma permettant d'effectuer une localisation rapide et plus précise de l'objet enfoui à l'aide d'une illumination optique simple, sans faire appel à une mesure complémentaire par une autre modalité (échographie, tomographie optique diffuse, etc.). Le principe se base sur le fait que l'objet présente en général également un contraste acoustique. Dans le cas de tumeurs du sein par exemple, les célérités entre tissus pathologiques et tissus sains sont bien distinctes, ainsi que la densité (Figure 82) (variations de quelques %).

La simulation de la Figure 97 est obtenue en considérant que la tumeur (l'objet enfoui) a les mêmes propriétés acoustiques que le milieu environnant. Reprenons le même type de simulation, avec cette fois des propriétés acoustiques différentes.

Cas 2 : propriétés acoustiques et optiques hétérogènes (le cas général, plus proche de la réalité)

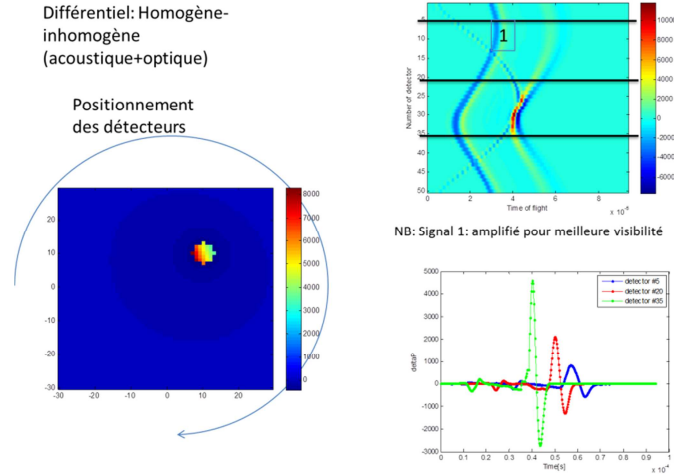


Figure 97 : Exemple de calcul pour une source optique ponctuelle placée en (-2.5 cm, 0 cm). Les résultats sont projetés sur un maillage régulier. 50 transducteurs ponctuels sont placés en périphérie et les mesures calculées sont représentées sous la forme d'un sinogramme (droite, haut), dont sont extraites trois mesures (barres noires) représentées à droite, en bas.

On voit apparaître un signal beaucoup plus fort aux temps longs, visibles sur les détecteurs #20 à 50. Sur les courbes bleu, rouge, vert : de forts signaux apparaissent, surtout sur la courbe verte représentant le signal capté par le détecteur #35. Ci-après, la même figure mais représentée sur la même échelle que la Figure 86 pour le cas 1 où seul l'inhomogénéité optique était prise en compte (inhomogène optique, homogène acoustique).

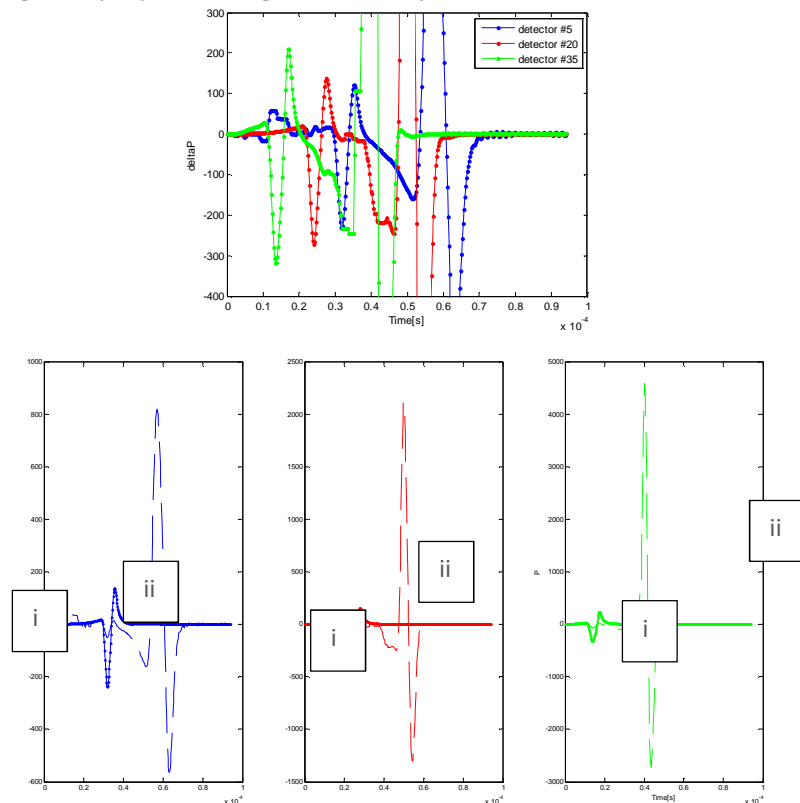


Figure 98 : Haut : Zoom sur les courbes de la Figure 97, Bas, idem, chaque courbe sur un graphe différent. Traits pleins épais: différence de mesure entre le cas homogène (acoustique+optique) et le cas inhomogène optique seul. Traits pointillés: différence de mesure entre le cas homogène (acoustique+optique) et le cas inhomogène acoustique seul.

Les signatures temporelles correspondant à l'inhomogénéité optique restent inchangées, apparaissent, en superposition, des signaux, aux temps longs, perturbant cette mesure : en général, on s'en affranchit en filtrant la mesure. On note donc sur les courbes en pointillés :

- i) Pas de signal acoustique directement émis par la tumeur puisqu'il n'y a pas d'inhomogénéité optique pour générer le signal acoustique.
- ii) un fort signal aux temps longs visible essentiellement sur la mesure du détecteur 35, correspondant à la distance source-tumeur-détecteur

### LOCALISATION DE L'OBJET : RESOLUTION DU PROBLEME INVERSE

La Figure 99 donne un point de vue plus schématisé. La différence de pression acoustique mesurée en un détecteur donné situé en D en fonction du temps présente deux perturbations: la première liée à l'onde générée par la tumeur située en T représentative de la distance TD, et la seconde due à l'onde générée au niveau de la source S et qui va mettre un certain temps avant d'arriver au niveau de la tumeur. Comme la tumeur est également inhomogène du point de vue des propriétés acoustiques (vitesse, densité), le son va se propager différemment. Ceci génère une deuxième perturbation, liée à la différence de propriétés acoustiques entre tissu sain et cancéreux, mesurée avec un retard représentatif de la distance source-tumeur-détecteur= $ST+TD$ . Ainsi, avec une seule mesure en 2D (deux en 3D), on peut localiser sans ambiguïté la position de la tumeur (source d'inhomogénéité). On passe ainsi d'une modalité d'imagerie *passive* (localisation de source) à une modalité d'imagerie *active*. Le deuxième point important est donc que, contrairement aux techniques actuellement développées, on se sert également de l'information disponible sur la localisation de la source optique.

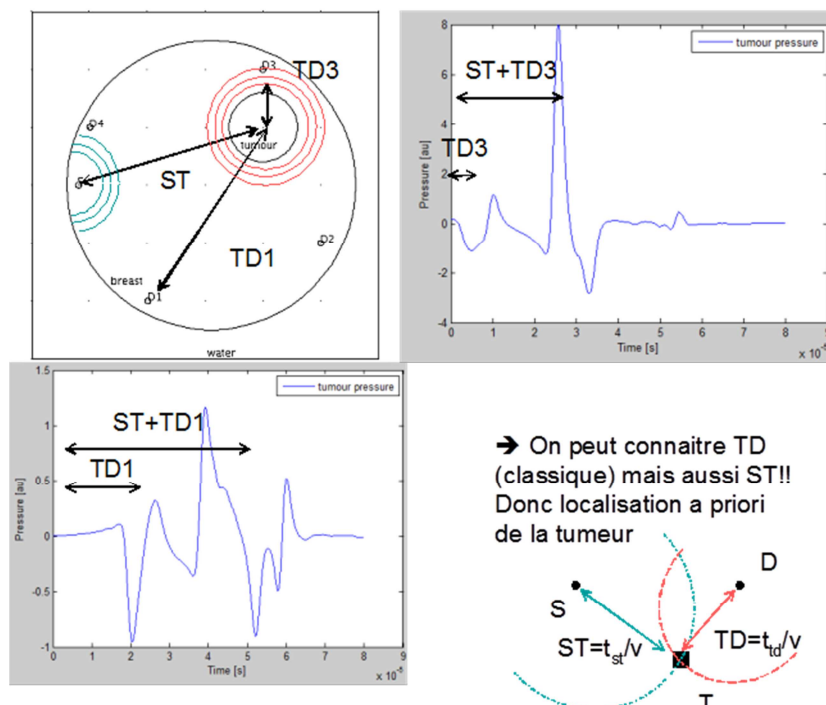


Figure 99 : Schéma illustrant le principe de localisation de la tumeur

Reprenons l'exemple de l'objet décrit ci-dessus. Supposons que l'on mesure le signal suivant au niveau du détecteur #5.

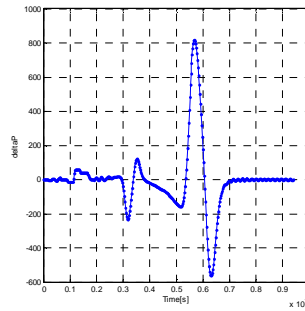


Figure 100 : Courbe bleue de la Figure 97, mesure au niveau du détecteur #5.

On sait que la première structure nous donnent une indication sur la distance tumeur-détecteur=TD :  $TD = \text{vitesse\_son} \times (3.39 \times 10^{-5})$ . En première approximation, on peut supposer que la vitesse du son est  $\text{vitesse\_son} = 1485 \text{ m/s}$  (on a vu que la prise en compte de l'inhomogénéité acoustique ne modifiait pas beaucoup le signal lié à l'inhomogénéité). Dans ces conditions, on peut localiser la tumeur à une distance  $TD \sim 5 \text{ cm}$ . Si aucune autre information n'est apportée, la seule chose que l'on peut dire est que la tumeur est située sur un cercle de rayon TD et de centre D. Si, en revanche, on prend en compte le second signal représentant la distance source-tumeur-détecteur=ST+TD :

$$ST+TD = \text{vitesse\_son} \times (6.07 \times 10^{-5}) \sim 9 \text{ cm}.$$

On en déduit la distance  $ST \sim 4 \text{ cm}$ .

Ceci est réalisé de manière approximative, et suppose implicitement que l'objet est ponctuel, ce qui en pratique est rarement le cas.

## RECONSTRUCTION DE L'OBJET : RESOLUTION DU PROBLEME INVERSE

Pour aller plus loin, il faut reconstruire point par point la carte de distribution de pression initiale. Pour cela il faut faire une tomographie de l'objet avec des acquisitions multiples en périphérie. L'idée introduite ici est d'ajouter une information spatiale (*a priori*) pour contraindre les algorithmes de reconstruction. Les objectifs sont de :

- Mieux reconstruire l'objet
- Obtenir une bonne reconstruction avec moins de mesures

Ceci n'est pas encore implémenté. On peut cependant suivre un schéma de reconstruction du type :

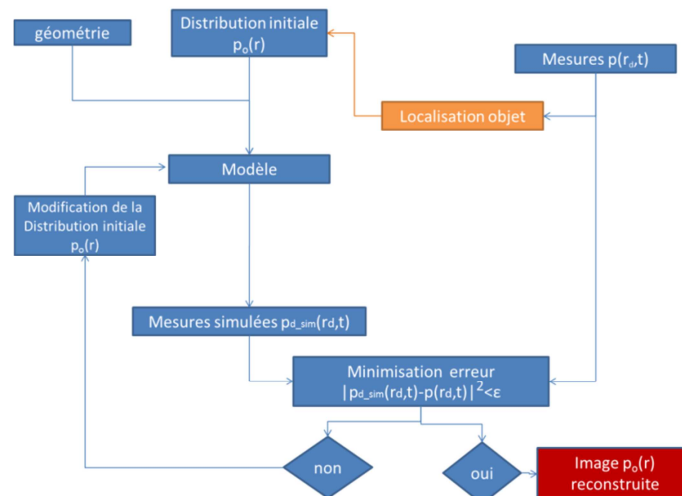


Figure 101 : schéma algorithmique proposé pour la reconstruction PAT. En bleu, le schéma classique, en orange, la modification introduite.

Pour le moment nous n'avons pas encore réalisé d'expérimentation correspondant à notre proposition car il faut d'abord concevoir un fantôme conforme aux propriétés optiques et acoustiques des tissus. Le travail est en cours.

## V. BANC DE MESURE PHOTOACOUSTIQUE

### BANC DE MESURES PRELIMINAIRES

Le pulse laser (Quantel, 1064nm, pulse de 6ns, 75mJ, cadence variable, ici 10Hz) illumine l'échantillon, le signal acoustique généré est détecté via le transducteur (Olympus, Centrascan Composite Immersion Transducer, 3.50 MHz, 10mm Element Diameter, Standard Case Style, Straight UHF, Focalisation sphérique à 1"), connecté à une carte d'acquisition (Euro Physical Acoustics S.A., Carte Ultrasons IPR-AD-1210). La carte d'acquisition correspond à un oscilloscope et un amplificateur pour amplifier le signal du transducteur. Le couplage laser est synchronisé avec l'oscilloscope grâce à un détecteur optique qui servira comme un trigger pour les acquisitions des signaux. Source et détecteur peuvent être déplacés selon les 3 directions de l'espace grâce à des platines motorisées (PI France S.A.S.) pour le déplacement du transducteur. La conception mécanique et l'automatisation ont été réalisées au LMA (Marseille), le montage optique à l'Institut Fresnel.

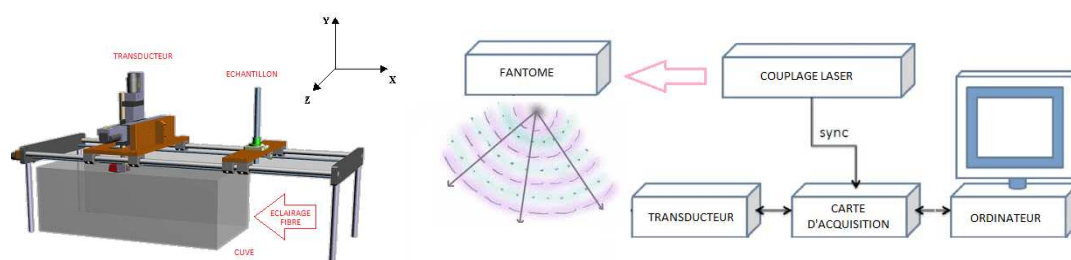


Figure 102 : Schéma de principe

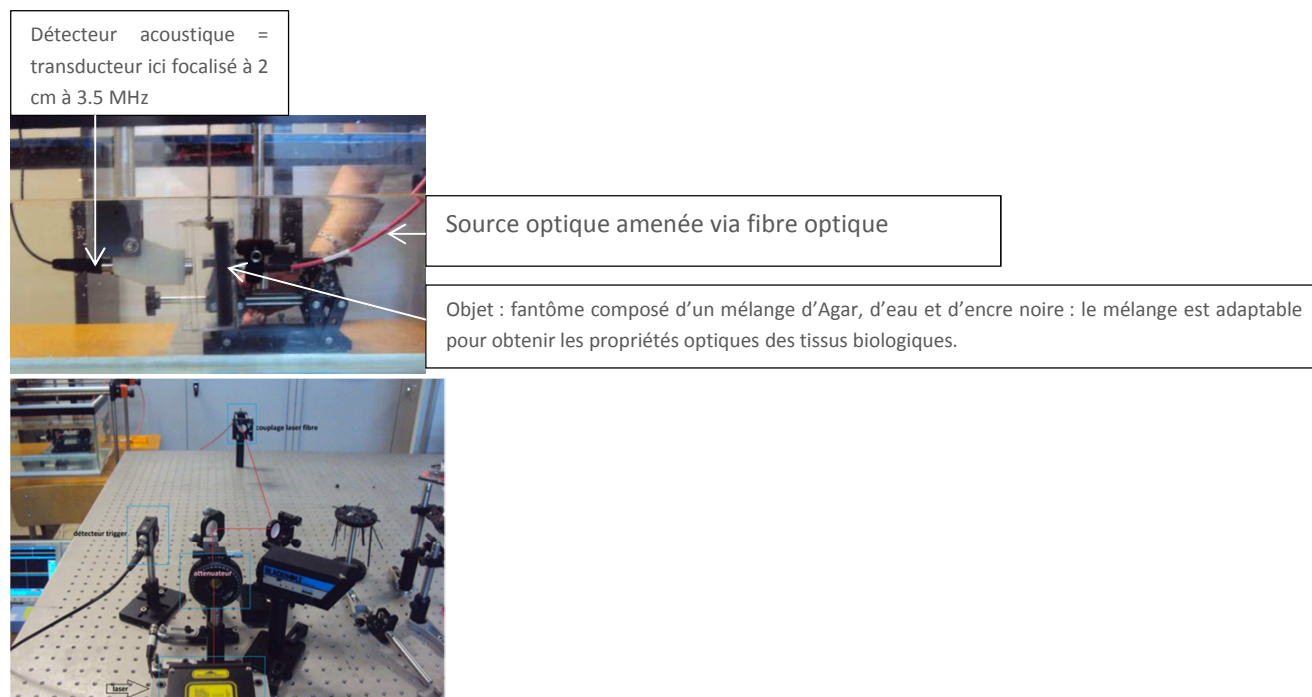


Figure 103 : Point de vue sur la source laser pulsée atténuée en sortie de laser grâce à une lame quart-d'onde. Le faisceau est renvoyé grâce à un jeu de miroirs vers la fibre.

Une campagne de mesures préliminaires a pu être réalisée (Figure 104) sur des fantômes à base d'agar-agar, de poudre de cellulose (sigmacell) et d'encre de chine.

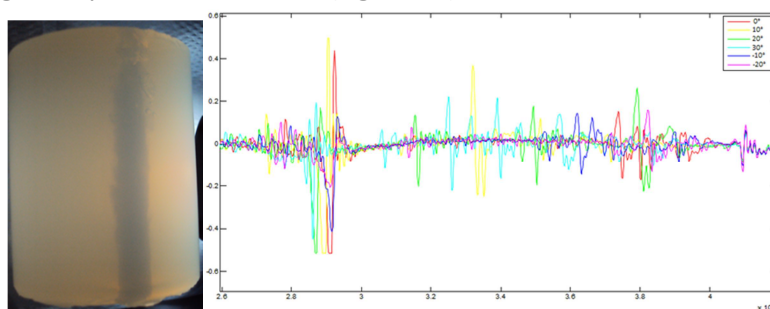
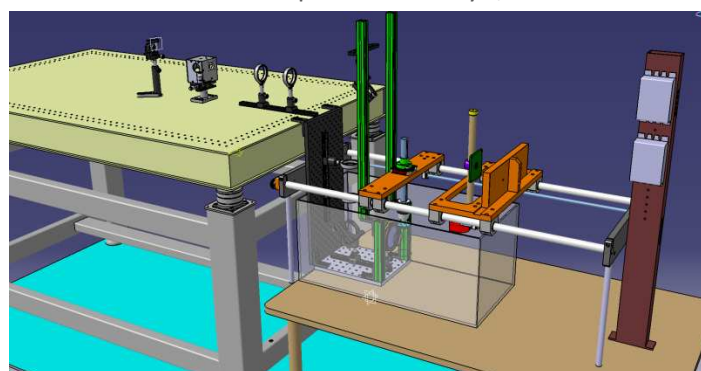


Figure 104 : Exemple d'échantillon, avec des signaux mesurés en transmission, l'échantillon subit des rotations autour de son axe. Vers  $41\mu\text{s}$ , on remarque le signal de la fibre optique : celui-ci est identifiable car tous les signaux se superposent. On observe que vers  $28,7\mu\text{s}$  on a un signal plus important du, on le suppose, à la tumeur insérée dans le fantôme blanc. Par temps de vol, on peut avoir l'estimation distance tumeur-bord éclairé ( $0^\circ$  - courbe rouge) :  $((4.09 - 2.87) / 100\,000) * 1\,540 = 0.018788\text{m}$ . Vitesse du son  $1\,540\text{ ms}^{-1}$ . Soit 18,8mm. Valeur mesurée : 18,27mm. Les autres signaux, sont des rebonds aux interfaces des milieux.

## MODIFICATIONS

Ce banc est actuellement en cours de modification, essentiellement pour ce qui concerne la voie d'illumination que l'on souhaite plus ergonomique et modulable. La conception du montage est réalisée à l'Institut Fresnel par H. Akhouayri, R. Burla et A. Busso.



Vu de côté

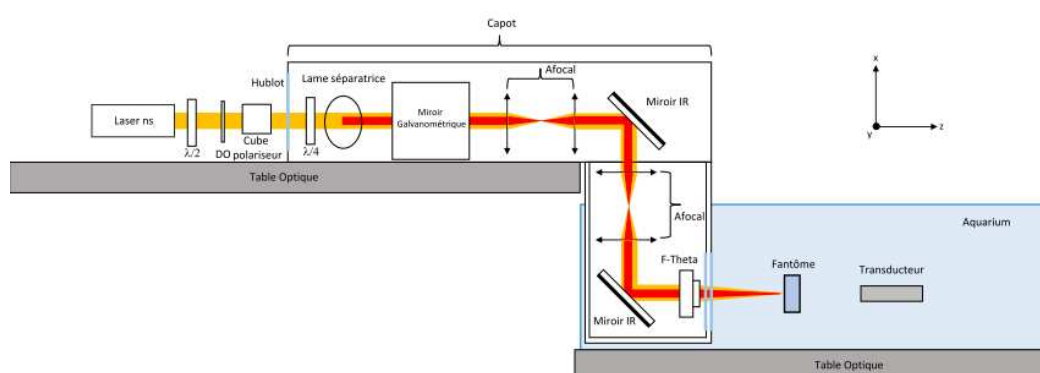


Figure 105 : schémas du montage de la voie d'illumination optique

Il s'agit globalement d'un périscope et comprend en particulier un système d'éléments optiques pour l'atténuation et le contrôle de la dose délivrée, un jeu de deux miroirs galvanométriques permettant de déplacer le faisceau en x,y, deux systèmes afocaux permettent d'élargir le faisceau, et une lentille F-Theta amovible pour la focalisation du faisceau. Le tout est contenu dans un caisson étanche.

## VI. CONCLUSION

Nous avons mis en place une chaîne de modélisation multiphysique, tenant compte à la fois de la propagation optique et de la propagation acoustique, afin de modéliser comme il convient le phénomène photoacoustique dans les tissus biologiques. La propagation optique est résolue par la méthode des éléments finis (divers programmes testés), tandis que la propagation acoustique est résolue par une méthode semi-analytique, dans l'espace de Fourier. Nous disposons ainsi d'un outil logiciel flexible nous permettant de traiter un grand nombre de cas. Nous l'utilisons actuellement pour optimiser le système expérimental et le protocole d'acquisitions de données. Il nous permet de modéliser au mieux la physique du système, en particulier sans hypothèse d'homogénéité sur les propriétés optiques **et** acoustiques. Ceci nous a permis de mettre en évidence la double perturbation introduite par la double inhomogénéité optique et acoustique d'une tumeur, permettant d'accéder plus facilement à la localisation de celle-ci. Nous avons ainsi proposé une méthode (brevet déposé) basée sur l'exploitation de cette double perturbation permettant d'accéder à une information a priori sur la localisation de la tumeur. Je souhaite donc poursuivre les développements autour de cette idée de scanner 'opto-échographique' pour l'examen du sein.

Nous avons par ailleurs mis en place les premiers éléments de la chaîne de mesure et de traitement de signaux photoacoustiques. Ceci va nous permettre de mener des campagnes de mesures sur des fantômes calibrés réalisés en collaboration avec le LMA. Le couplage avec l'antenne ANAIS (ANAtomical Imaging and interventional System, Figure 106), développée au LMA et adaptée à l'examen du sein, est également à l'étude.



Figure 106 : Photographies et schéma de l'antenne ANAIS développée au LMA.

Pour le moment, nous avons suivi les recommandations de la littérature quant au choix de la source d'illumination (laser pulsé 1064 ns, durée d'impulsion qqns). Pour plus de souplesse en terme de manipulation, d'applications et de coût, il serait intéressant de tester la possibilité de sources continues modulées à une ou plusieurs fréquences, voire 'chirpées' (modulation à fréquence variable).

Nous avons ainsi mis en place tous les éléments pour la réalisation de mesures tomographiques ainsi que la chaîne de reconstruction **quantitative** associée, permettant de reconstruire non seulement la distribution de pression initiale, mais également les paramètres optiques et/ou acoustiques.



## VII. REFERENCES

- Allen, T.J., Beard, P.C., 2012. Optimising the detection parameters for deep tissue photoacoustic imaging, in: Oraevsky, A.A., Wang, L.V. (Eds.), *Photons Plus Ultrasound: Imaging and Sensing 2012*.
- Bal, G., Uhlmann, G., 2010. Inverse diffusion theory of photoacoustics. *Inverse Probl.* 26.
- Beard, P., 2011. Biomedical photoacoustic imaging. *Interface Focus* 1, 602–631.
- Bell, A.G., 1880. On the Production and Reproduction of Sound by Light: the Photophone. *Am Ass Adv. Sci Proc* 29, 115–136.
- Bell, A.G., 1881. The Spectrophone. *Bull Phil Soc* 4, 142.
- Berg, W.A., Gutierrez, L., NessAiver, M.S., Carter, W.B., Bhargavan, M., Lewis, R.S., Ioffe, O.B., 2004. Diagnostic accuracy of mammography, clinical examination, US, and MR imaging in preoperative assessment of breast cancer. *Radiology* 233, 830–849.
- Bergers, G., Benjamin, L.E., 2003. Tumorigenesis and the angiogenic switch. *Nat. Rev. Cancer* 3, 401–410.
- Bossy, E., Daoudi, K., Boccara, A.C., Tanter, M., Aubry, J.-F., Montaldo, G., Fink, M., 2006. Time reversal of photoacoustic waves. *Appl. Phys. Lett.* 89, 184108.
- Brooksby, B.A., Dehghani, H., Pogue, B.W., Paulsen, K.D., 2003. Near-infrared (NIR) tomography breast image reconstruction with a priori structural information from MRI: Algorithm development for reconstructing heterogeneities. *Ieee J. Sel. Top. Quantum Electron.* 9, 199–209.
- Choe, R., Corlu, A., Lee, K., Durduran, T., Konecky, S.D., Grosicka-Koptyra, M., Arridge, S.R., Czerniecki, B.J., Fraker, D.L., DeMichele, A., Chance, B., Rosen, M.A., Yodh, A.G., 2005. Diffuse optical tomography of breast cancer during neoadjuvant chemotherapy: A case study with comparison to MRI. *Med. Phys.* 32, 1128–1139.
- Cmielewski, O., Tortel, H., Litman, A., Saillard, M., 2007. A Two-Step Procedure for Characterizing Obstacles Under a Rough Surface From Bistatic Measurements. *Geosci. Remote Sens. Ieee Trans.* 45, 2850–2858.
- Cox, B.T., Kara, S., Arridge, S.R., Beard, P.C., 2007. k-space propagation models for acoustically heterogeneous media: Application to biomedical photoacoustics. *J. Acoust. Soc. Am.* 121, 3453–3464.
- Ermilov, S.A., Khamapirad, T., Conjusteau, A., Leonard, M.H., Lacewell, R., Mehta, K., Miller, T., Oraevsky, A.A., 2009. Laser optoacoustic imaging system for detection of breast cancer. *J. Biomed. Opt.* 14, 024007.
- Fang, Q., Selb, J., Carp, S.A., Boverman, G., Miller, E.L., Brooks, D.H., Moore, R.H., Kopans, D.B., Boas, D.A., 2011. Combined Optical and X-ray Tomosynthesis Breast Imaging. *Radiology* 258, 89–97.
- Funke, A.R., Aubry, J.-F., Fink, M., Boccara, A.-C., Bossy, E., 2009. Photoacoustic guidance of high intensity focused ultrasound with selective optical contrasts and time-reversal. *Appl. Phys. Lett.* 94, 054102.
- Gibson, A., Dehghani, H., 2009. Diffuse optical imaging. *Philos. Trans. R. Soc. -Math. Phys. Eng. Sci.* 367, 3055–3072.
- Heijblom, M., Piras, D., Xia, W., van Hespén, J.C.G., Klaase, J.M., van den Engh, F.M., van Leeuwen, T.G., Steenbergen, W., Manohar, S., 2012. Visualizing breast cancer using the Twente photoacoustic mammoscope: What do we learn from twelve new patient measurements? *Opt. Express* 20, 11582–11597.
- Karabutov, A.A., Podymova, N.B., Letokhov, V.S., 1996. Time-resolved laser optoacoustic tomography of inhomogeneous media. *Appl. Phys. B-Lasers Opt.* 63, 545–563.
- Kruger, R.A., 1994. PHOTOACOUSTIC ULTRASOUND. *Med. Phys.* 21, 127–131.
- Ma, R., Taruttis, A., Ntziachristos, V., Razansky, D., 2009. Multispectral optoacoustic tomography (MSOT) scanner for whole-body small animal imaging. *Opt. Express* 17, 21414–21426.
- Mallidi, S., Luke, G.P., Emelianov, S., 2011. Photoacoustic imaging in cancer detection, diagnosis, and treatment guidance. *Trends Biotechnol.* 29, 213–221.
- Manohar, S., Kharine, A., van Hespén, J.C.G., Steenbergen, W., van Leeuwen, T.G., 2004. Photoacoustic mammography laboratory prototype: imaging of breast tissue phantoms. *J. Biomed. Opt.* 9, 1172–1181.
- Manohar, S., Kharine, A., van Hespén, J.C.G., Steenbergen, W., van Leeuwen, T.G., 2005. The Twente Photoacoustic Mammoscope: system overview and performance. *Phys. Med. Biol.* 50, 2543–2557.



- Manohar, S., Vaartjes, S.E., van Hespén, J.C.G., Klaase, J.M., van den Engh, F.M., Steenbergen, W., van Leeuwen, T.G., 2007. Initial results of in vivo non-invasive cancer imaging in the human breast using near-infrared photoacoustics. *Opt. Express* 15, 12277–12285.
- McDonald, D.M., Choyke, P.L., 2003. Imaging of angiogenesis: from microscope to clinic. *Nat. Med.* 9, 713–725.
- Oraevsky, A., Jacques, S.L., Esenaliev, R.O., Tittel, F.K., 1994. Laser-based optoacoustic imaging in biological tissues, in: Jacques, S.L. (Ed.), *Laser-Tissue Interaction V*. SPIE, pp. 122–128.
- Oraevsky, A.A., Ermilov, S.A., Conjusteau, A., Miller, T., Gharieb, R.R., Lacewell, R., Mehta, K., Radulescu, E.G., Herzog, D., Thompson, S., Stein, A., McCorvey, M., Otto, P., Khamapirad, T., 2007. Initial clinical evaluation of laser optoacoustic imaging system for diagnostic imaging of breast cancer. *Breast Cancer Res. Treat.* 106, S47–S47.
- Oraevsky, A.A., Esenaliev, R.O., Jacques, S.L., Tittel, F.K., 1996. Laser optoacoustic tomography for medical diagnostics: principles 22–31.
- Oraevsky, A.A., Jacques, S.L., Tittel, F.K., 1997. Measurement of tissue optical properties by time-resolved detection of laser-induced transient stress. *Appl. Opt.* 36, 402–415.
- Razansky, D., Vinegoni, C., Ntziachristos, V., 2007. Multispectral photoacoustic imaging of fluorochromes in small animals. *Opt. Lett.* 32, 2891–2893.
- Ripoll, J., Ntziachristos, V., 2005. Quantitative point source photoacoustic inversion formulas for scattering and absorbing media. *Phys. Rev. E* 71.
- Rosencwaig, A., Gersho, A., 1976. Theory of the photoacoustic effect with solids. *J. Appl. Phys.* 47, 64–69.
- Shao, P., Cox, B., Zemp, R.J., 2011. Estimating optical absorption, scattering, and Grueneisen distributions with multiple-illumination photoacoustic tomography. *Appl. Opt.* 50, 3145–3154.
- Tiróna MT, Sehgal R, Ballester O, 2010. Prevention of breast cancer (part I): epidemiology, risk factors, and risk assessment tools. *Cancer Invest* 28, 743–750.
- Uematsu, T., Yuen, S., Kasami, M., Uchida, Y., 2008. Comparison of magnetic resonance imaging, multidetector row computed tomography, ultrasonography, and mammography for tumor extension of breast cancer. *Breast Cancer Res. Treat.* 112, 461–474.
- Voznyuk, I., Tortel, H., Litman, A., 2013. Scattered field computation with an extended FETI-DPEM2 method. *Prog. Electromagn. Res.* 139, 247–263.
- Wang, L.H.V., Zhao, X.M., Sun, H.T., Ku, G., 1999. Microwave-induced acoustic imaging of biological tissues. *Rev. Sci. Instrum.* 70, 3744–3748.
- Wang, X.D., Pang, Y.J., Ku, G., Xie, X.Y., Stoica, G., Wang, L.H.V., 2003. Noninvasive laser-induced photoacoustic tomography for structural and functional in vivo imaging of the brain. *Nat. Biotechnol.* 21, 803–806.
- Yin, L., Wang, Q., Zhang, Q., Jiang, H., 2007. Tomographic imaging of absolute optical absorption coefficient in turbid media using combined photoacoustic and diffusing light measurements. *Opt. Lett.* 32, 2556–2558.
- Yuan, Z., Wang, Q., Jiang, H., 2007. Reconstruction of optical absorption coefficient maps of heterogeneous media by photoacoustic tomography coupled with diffusion equation based regularized Newton method. *Opt. Express* 15, 18076–18081.
- Zemp, R.J., 2010. Quantitative photoacoustic tomography with multiple optical sources. *Appl. Opt.* 49, 3566–3572.
- Zhu, Q., Hegde, P.U., Ricci, A., Kane, M., Cronin, E.B., Ardeshirpour, Y., Xu, C., Aguirre, A., Kurtzman, S.H., Deckers, P.J., Tannenbaum, S.H., 2010. Early-Stage Invasive Breast Cancers: Potential Role of Optical Tomography with US Localization in Assisting Diagnosis. *Radiology* 256, 367–378.

## CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Une modélisation fine et efficace de la propagation de la lumière dans les tissus biologiques, dans des organes de plus en plus épais, constitue ainsi la clé du gain en précision des méthodes de sondage non invasif par voie optique. J'ai ainsi étudié les deux pistes alternatives pour sonder ces milieux diffusants à l'échelle macroscopique ou mésoscopique, avec quelques avancées majeures que je rappelle ici.

*Examen des tissus biologiques épais : DOT/FDOT en mode continu ou résolu en temps.*

La FDOT permet d'accéder à l'information à l'échelle moléculaire. Dans le cadre de l'examen du petit animal, la contrainte de coût et l'ergonomie ont été des aspects importants à prendre en compte dans le développement de l'instrument. La barre des 50k€ pour un système commercial dédié au petit animal est l'ordre de prix que l'utilisateur (laboratoire de recherche en biologie, pharmacologie, médecine...) est susceptible d'investir dans ce type d'instrument. C'est ceci qui a guidé notre choix de l'utilisation de lasers continus. En termes d'ergonomie, on a voulu un système d'examen simple d'utilisation pour le biologiste (minimisation des réglages et du nombre de mesures, reconstructions d'image rapide), et dans lequel la souris pouvait être placée, repositionnée, sans trop de manipulation, dans une position naturelle (allongée et non suspendue, sans liquide d'adaptation d'indice...). Ces contraintes ont ainsi guidé mes travaux de recherche (Da Silva et al., 2008). Dans ce domaine, j'ai proposé les améliorations suivantes :

- Examen de l'animal en position allongée et utilisation du signal d'excitation pour prendre en compte l'inhomogénéité optique de l'animal (Hervé et al., 2007; Koenig et al., 2008);
- Couplage à un système de tomographie par rayons X (da Silva et al., 2007; Da Silva et al., 2009);
- Accélération de la résolution du problème inverse par utilisation des propriétés des fonctions d'ondelettes (Landragin-Frassati et al., 2009a, 2009b).

Les résultats de ces projets ont été largement valorisés (10 articles, 6 brevets déposés, nombreuses communications) et sont largement cités.

En parallèle, pour anticiper/accompagner le développement de marqueurs fluorescents injectables à l'humain, activité de recherche très dynamique, au CEA-LETI notamment (cf. travaux d'Isabelle Texier-Nogues (Texier et al., 2009)), nous avons opté pour la technologie résolue en temps, convaincus que, pour examiner des organes beaucoup plus épais que la souris, il fallait exploiter un signal beaucoup plus riche d'information. Les travaux d'A. Laidevant et de N. Ducros dont j'ai accompagné les travaux de thèse ont apporté des éclairages importants sur l'utilisation, à bon escient, de ce type de technologie, en particulier :

- L'influence des interfaces sur le signal mesuré (Ducros et al., 2008; Guyon et al., 2009; Laidevant et al., 2006a) ;
- Les circonstances où l'utilisation de la résolution temporelle apporte une information supplémentaire pour une meilleure résolution (Ducros et al., 2010, 2009a, 2009b).

Nous avons également proposé quelques astuces pour faciliter les reconstructions basées sur les mesures de fluorescence résolues en temps (Da Silva et al., 2010; Laidevant et al., 2007, 2006b). Dans ce domaine aussi, nos résultats de recherche ont également été bien valorisés (7 articles publiés, 3 brevets déposés).

*Perspectives* L'utilisation des ondelettes dans le domaine de la DOT ou FDOT est très en vogue actuellement. Les travaux entrepris dans le cadre de la thèse d'A. Frassati sont relativement précurseurs et mériteraient d'être approfondis. Pour ce qui concerne la méthode de réduction de modèle, il faut maintenant travailler sur la prise en compte des matrices de défauts. Pour la méthode Galerkin-ondelette, il faut mener l'étude plus loin sur des géométries réelles pour tester les limites et la robustesse de la méthode en géométries complexes.

*Examen des tissus biologiques par filtrage polarimétrique.*

Nous avons montré que l'utilisation des propriétés de la lumière polarisée elliptiquement permettait la sélection d'une profondeur d'analyse. Le principe a été testé expérimentalement *in vivo* en collaboration avec I. Vanzetta de l'INT (Institut des Neurosciences de la Timone) pour l'examen du cortex sur rat anesthésié (Da Silva et al., 2012). L'étude théorique a été réalisée dans le cadre de la thèse de S. Rehn (Rehn et al., 2013), en partenariat avec A. Planat-Chrétien et M. Berger du CEA-LETI, à l'aide de simulations Monte Carlo de la propagation de la lumière polarisée en milieux diffusants, sur un éventail de propriétés optiques large, couvrant la plupart des tissus biologiques. Nous avons ainsi montré la relation entre l'ellipticité du canal d'imagerie choisi et la profondeur de pénétration, permettant ainsi le contrôle de la profondeur d'analyse.

*Perspectives* L'idéal serait évidemment de parvenir à une image directe « par tranche », soit une image 2D correspondant à une profondeur donnée. Il faudra pour cela poursuivre les efforts de modélisation et d'instrumentation. En matière de modélisation, je souhaiterais l'accélérer soit en passant par une implémentation parallèle sur des cartes graphiques (GPU) soit par une modélisation numérique ou semi-analytique. Je voudrais également travailler sur le traitement des données pour le recalage automatique des images et pour un meilleur filtrage du bruit. En termes d'instrumentation, nous souhaitons améliorer l'automatisation des mesures grâce à l'utilisation de lames à cristaux liquides.

Dans la mesure où la technique permet d'obtenir une sélection en profondeur, elle s'applique particulièrement bien à l'examen (imagerie fonctionnelle) à l'échelle mésoscopique de milieux stratifiés comme le cortex ou encore la peau. Ceci me permet d'envisager plusieurs applications, et en premier lieu, l'application à l'imagerie fonctionnelle 3D du cortex, car c'est celle qui m'a guidée depuis le début. C'est l'objet du projet PoLiDRIC (Polarized Light for Depth Resolved functional Imaging of Cortex), non financé pour le moment, issu de ma collaboration avec I. Vanzetta de l'INT. L'objectif est de développer la méthode d'analyse polarimétrique pour une analyse fine en profondeur du cortex des primates. Pour remonter aux paramètres hémodynamiques de manière localisée, des mesures à plusieurs longueurs d'onde sont nécessaires, entraînant également des modifications du chemin optique. Il faudra par conséquent étudier l'influence du filtrage polarimétrique sur le filtrage spectral et les

conséquences sur l'évaluation des paramètres. Je souhaite également poursuivre le travail prospectif autour de l'application de la méthode à d'autres applications plus ou moins proches :

- En neurosciences : avec l'étude de la moelle épinière et de sa régénération après sectionnage accidentel. Contrairement au cortex cérébral, les neurones de la matière blanche et de la moelle épinière sont myélinisés. Or il est démontré que la myéline est une substance polarisante. L'exploitation de cette propriété devrait nous permettre de proposer un nouvel outil d'examen pour les recherches pré-cliniques dans ce domaine.

Par ailleurs, je co-encadre la thèse de C. Valdés-Escobar, réalisée dans le cadre d'un financement européen Erasmus Mundus, en co-tutelle avec T. Durduran de l'ICFO à Barcelone. C. Valdés-Escobar doit prochainement tester la possibilité d'accéder à une résolution en profondeur de l'imagerie du flux sanguin cérébral (Cerebral Blood Flow (CBF)) dans des modèles animaux en utilisant des statistiques spatiales et temporelles du speckle. Avec le même programme de financement, S. Sridhar doit nous rejoindre le 1<sup>er</sup> octobre 2013, à l'Institut Fresnel principalement, pour développer la partie théorique associée.

Pour favoriser la dynamique autour de ce domaine pluridisciplinaire, I. Vanzetta et moi-même avons organisé la première édition de l'école thématique « Des Photons et des Neurones » (<http://www.fresnel.fr/photons-neurones/index.php/fr/>) en 2012. Cette école a permis de rassembler des chercheurs, étudiants, industriels, médecins d'horizons multiples et des industriels (une cinquantaine de personnes) sur le site du golf de Cabriès près de Marseille. La deuxième édition devrait se tenir en région Rhône-Alpes en juin 2014 avec un comité d'organisation élargi grâce à l'implication forte d'A. Planat-Chrétien du CEA-LETI à Grenoble et de B. Montcel de CREATIS à Lyon. Nous pourrions également compter pour cette deuxième édition du soutien du tout nouveau groupe européen Photonics4brain.org, initié en 2012 par Turgut Durduran de l'ICFO.

- En dermatologie : c'est la première application biomédicale des techniques basées sur l'imagerie polarimétrique, pour la détection de cancers précoces (mélanomes, cancer du col de l'utérus, de l'œsophage). La polarisation elliptique devrait permettre de raffiner les examens couramment réalisés. En dehors des applications cliniques, je vois également des applications en cosmétologie/pharmacologie pour le suivi *in vivo* de pénétration des produits cosmétiques /pharmaceutiques dans la peau. En effet, les seules méthodes actuellement disponibles sont i) un suivi *ex-vivo* ou ii) l'analyse de la présence des composants dans l'urine.

### *Mammographie photo-acoustique*

Ce projet a été impulsé grâce au soutien financier du C'Nano PACA au projet MammoTPA, réalisé en collaboration avec le LMA, et qui nous a permis de financer la partie acoustique d'un banc de laboratoire. Dans le cadre de la thèse de N. Song (2011-2014), financée par le CSC (Chinese Scientific Council), nous avons mis en place les outils de modélisation et l'algorithmie de reconstruction associée, ainsi que le protocole permettant de remonter à une information découplée sur les propriétés d'absorption et de diffusion. Ceci nous permet de simuler pleinement notre système de mesure et de travailler à un protocole d'acquisition de données pour obtenir des reconstructions de bonne qualité. Nos simulations ont montré l'intérêt d'exploiter la double inhomogénéité optique et acoustique d'une tumeur pour une localisation plus efficace et donc l'amélioration des reconstructions. Je souhaite approfondir et

mener une étude spécifique autour de la faisabilité d'une sonde opto-échographique pour l'examen du sein, ou d'autres organes.

Le projet multipartenaires AVENTURES (Analyse Variationnelle EN Tomographies UltrasonoRES) financé par l'ANR Blanc SIMI1 2012, a pour objectifs de:

- établir des modèles physiques pour la tomographie photo- ou thermo-acoustique, en prenant en compte les propriétés optiques du milieu à l'échelle micro ou mésoscopique;
- établir des techniques de reconstructions d'images basées sur des analyses variationnelles et des méthodes de contrôle optimal (problèmes inverses) et de comparer ces techniques avec les techniques standard d'inversion;
- implémenter des codes numériques efficaces pour les modèles direct et inverse;
- effectuer des expériences pour valider les modèles;
- optimiser la procédure d'acquisition des données.

Le financement est demandé pour quatre ans et le projet regroupe quatre partenaires, avec à titre indicatif la distribution de tâches suivantes :

Month	0	6	12	18	24	36	48
	PAT (coupled) models (Task 2)						
	Mathematical models – Inverse problems (decoupled case) (Task 3)						
	Numerical simulation for decoupled models (Task 4)						
					Mathematical models – Inverse problems for coupled models (Task 5)		
					Numerical simulation for decoupled models (Task 6)		
	Experimentation (Task 7)						
Legend	MAPMO		IMT		FRESNEL		LMA

Dans le cadre de ce programme, sera étudiée la possibilité d'un couplage de notre source d'éclairage avec l'antenne tomographique ANAIS (1024 éléments répartis sur un arc de 190° avec rayon de courbure de 10 cm) développée au LMA (<http://www.lma.cnrs-mrs.fr/article566.html>).

### Modèles hybrides

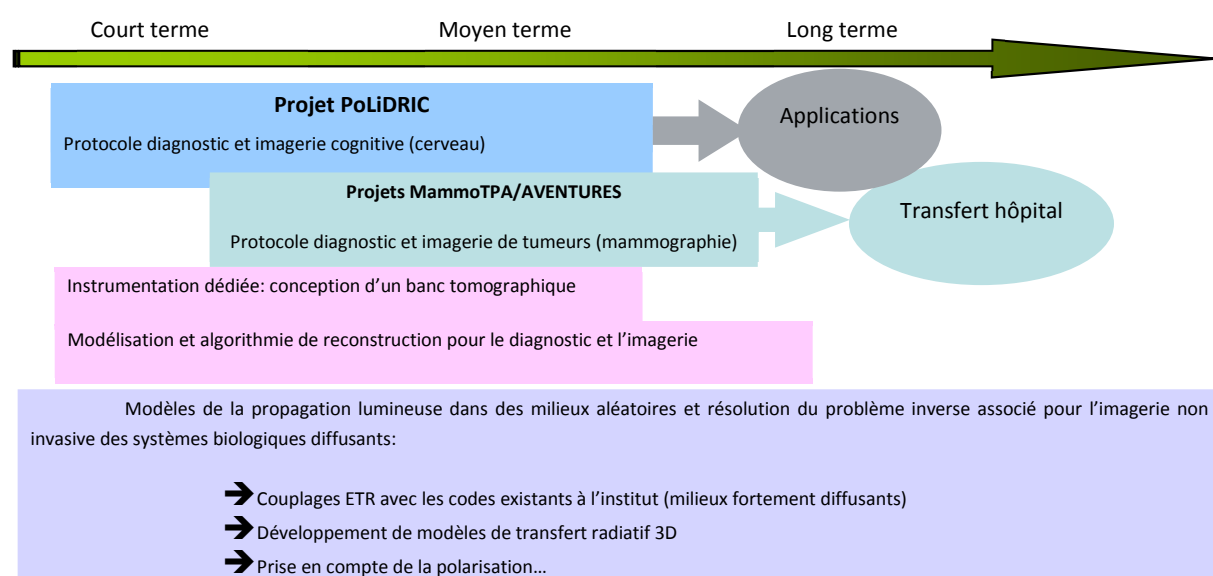
Dans le cadre d'une collaboration déjà bien établie au sein de l'équipe DiMABio avec L. Hoffart de l'APHM sur le suivi de greffes de cornées par la technique d'imagerie OCT, il s'agit d'apporter des outils de modélisation pour comprendre l'évolution de la transparence des cornées en fonction de diverses pathologies. La cornée est un milieu peu diffusant et présentant des structures relativement régulières. L'idée serait de coupler des modèles électromagnétiques

exacts exprimés à une échelle spécifique, avec une modélisation plus macroscopique *via* l'ETR. Les discussions vont se poursuivre pour aboutir à un projet de recherche planifié.

Mes projets de recherche pour les années à venir s'inscrivent dans la suite des démarches engagées depuis mon entrée au CNRS, et se déclinent suivant plusieurs projets matures pour lesquels des financements ont été acquis ou ont été demandés. D'autres projets sont encore en phase de réflexion et de recherche de partenaires.

Ci-après est représenté de manière schématique le déroulement de mon projet pour les années à venir.

### Développement de méthodes optiques pour le diagnostic et l'imagerie biomédicale



Ces divers projets s'inscrivent parfaitement dans mon projet de recherche sur les méthodes optiques pour le biomédical. Ils vont contribuer au renfort sur cette thématique de la jeune équipe DiMABio (Diffusion en Milieux Aléatoires et Biologiques), avec une reconnaissance de l'Institut Fresnel dans ce domaine.

